



# Imagerie acousto-optique dans les milieux diffusants épais : de l'amélioration technique à l'application pré-clinique ex vivo

Emilie Benoit À La Guillaume

## ► To cite this version:

Emilie Benoit À La Guillaume. Imagerie acousto-optique dans les milieux diffusants épais : de l'amélioration technique à l'application pré-clinique ex vivo. Optique [physics.optics]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2013. Français. <pastel-00916570>

**HAL Id: pastel-00916570**

**<https://pastel.archives-ouvertes.fr/pastel-00916570>**

Submitted on 10 Dec 2013

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# THÈSE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE

Spécialité

**Imagerie**

(ED 389 - La Physique de la Particule à la Matière Condensée)

Préparée à l'INSTITUT LANGEVIN - ONDES ET IMAGES

Présentée par

**Émilie BENOIT À LA GUILLAUME**

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR de l'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE

Sujet de la thèse :

**Imagerie acousto-optique dans les milieux diffusants épais :  
de l'amélioration technique  
à l'application pré-clinique *ex vivo***

**Soutenance prévue le 17 octobre 2013**

devant le jury composé de :

M.	VIAL	Jean-Claude	Rapporteur
M.	PAULIAT	Gilles	Rapporteur
Mme.	SCHANNE-KLEIN	Marie-Claire	Examineur
M.	BERCOFF	Jérémy	Examineur
M.	GOLDNER	Philippe	Examineur
M.	RAMAZ	François	Directeur de thèse
M.	HUIGNARD	Jean-Pierre	Membre invité
M.	GENNISSON	Jean-Luc	Membre invité



---

## Remerciements

---

L'institut Langevin a été pour moi un lieu d'enrichissement personnel incroyable, aussi bien intellectuel qu'humain et je tiens à remercier tous ses membres pour l'atmosphère agréable et productive qu'ils y font régner.

Je remercie chaleureusement mon directeur de thèse François Ramaz de m'avoir fait découvrir l'univers passionnant de l'imagerie acousto-optique et de m'avoir conseillée et soutenue tout au long de la thèse, depuis la recherche de financement jusqu'à la construction de mon avenir professionnel. Il a été d'une aide précieuse tant au niveau expérimental que théorique, toujours prêt à décortiquer le montage pendant des heures pour trouver l'erreur ou à griffonner un schéma explicatif. Je tiens également à le remercier pour la confiance qu'il m'a accordée, m'envoyant présenter notre travail en conférence internationale aux quatre coins du monde.

J'exprime toute ma gratitude à MM. Jean-Claude Vial et Gilles Pauliat pour le temps qu'ils ont consacré à rapporter mon manuscrit et l'intérêt qu'ils y ont porté, ainsi qu'à Mme. Marie-Claire Schanne-Klein, MM. Jérémy Bercoff et Philippe Goldner qui m'ont fait l'honneur de faire partie du jury de thèse.

Je remercie Jean-Luc Gennisson dont l'investissement dans le projet a grandement contribué à la richesse de ma thèse puisqu'il m'a initiée à l'imagerie ultrasonore et nous a aidés à établir des collaborations avec le milieu médical. Toujours motivé et force de proposition, j'ai eu grand plaisir à travailler avec lui. Je remercie également Jean-Pierre Huignard pour ses conseils avisés. Je reste admirative de sa grande connaissance de la recherche qui nous a permis à plusieurs reprises d'initier des partenariats avec d'autres équipes, en France ou à l'international.

Je remercie les personnes avec qui j'ai eu la chance de collaborer : au sein du laboratoire, Amaury Prost, Emmanuel Bossy, Romain Pierrat et Rémi Carminati, à l'Université de Nice, Stefania Residori et Umberto Bortolozzo, au CEA Leti de Grenoble, Timothé Laforest, Arnaud Verdant et Antoine Dupret, à Chimie ParisTech, Johanne Seguin, et à l'Institut Curie, Vincent Servois. Je remercie également toute mon équipe et plus particulièrement Salma Farahi qui m'a chaleureusement accueillie au laboratoire, a guidé mes premiers pas en imagerie acousto-optique et m'a transmis son savoir-faire avec générosité. Mes remerciements s'adressent aussi à Max Lesaffre pour nos quelques mois de collaboration en salle de manip qui m'ont donné un nouvel élan pour les dernières expériences de fin de thèse, ainsi que pour sa disponibilité et sa grande pédagogie. Merci à Baptiste Jayet pour avoir partagé mes petits problèmes expérimentaux, pour sa motivation à animer la vie du laboratoire et pour ses desserts bretons salvateurs du goûter. Merci enfin à Jean-Baptiste Laudereau, fraîchement arrivé dans l'équipe, à qui je fais confiance pour porter l'acousto-optique vers l'application in vivo.



Je remercie mes voisins de bureaux, d'abord à l'ESPCI : Salma, Karla, Nok, Baptiste et Marc, puis à l'IPG : à nouveau Baptiste et Karla, ainsi qu'Anne, Amir, Fabien, Camille, Nicolas, Sylvain, Marion sans oublier le ficus. Merci pour votre bonne humeur, pour les nombreuses rigolades, pour les goûters de haute gastronomie et tous les bons moments partagés en dehors du laboratoire : week-ends sportifs ou pas, soirées déguisées, jeux de société, karaoké et sorties culturelles.

Je remercie tout particulièrement mes supers copines, j'ai nommé Daria, Ariadna, Camille, Anne et Lorraine pour les discussions et confidences entre filles, les sessions cupcakes avec topping, les cours de zumba survoltés.

Merci à mes colocataires Marie-Pierre et Olivier qui me supportent au quotidien depuis près de 4 ans et qui m'ont grandement incité à faire une thèse.

Mes derniers remerciements vont à ma famille et mes amis pour leurs conseils, leurs encouragements, leur présence et leur fidèle soutien. Un profond merci à ma mère, à Aurel, Seb, Ag, Lari, Rafafou, Clairou, Leïla et Milleca.

Dans les tissus biologiques, la diffusion multiple de la lumière est un obstacle à une imagerie optique de profondeur résolue spatialement. Alliant la localisation ultrasonore à la détection de lumière diffuse, l'imagerie acousto-optique offre une résolution millimétrique en suivant le signal des photons décalés spectralement de la fréquence des ultrasons, dits "marqués" et issus de la zone confinée du foyer acoustique. Bien que ce signal soit faible et difficile à séparer de la lumière simplement diffusée, plusieurs techniques de détection cohérente ou incohérente existent et sont capables de produire des images de contraste optique de bonne qualité à travers plusieurs centimètres de milieu diffusant. Testée depuis près de 20 ans sur des échantillons calibrés imitant les propriétés optiques des tissus, l'imagerie acousto-optique est toutefois peu connue de la communauté médicale par manque d'application sur des cas de pathologies réelles.

La thèse présente les dernières améliorations apportées aux deux techniques de détection cohérente que nous utilisons, basées sur l'holographie numérique ou photoréfractive. Une méthode de contrôle de la résolution dans l'axe de propagation ultrasonore est mise en place sur le système d'holographie numérique, jouant sur l'utilisation d'une modulation de phase aléatoire à variation rapide pour réduire la zone de cohérence du signal. En ce qui concerne l'holographie photoréfractive, nous démontrons la possibilité de pratiquer ce type de détection sans faisceau optique de référence avec un cristal de BSO à 532 nm. Parallèlement, la rapidité de la détection photoréfractive à 780 nm sur cristal de SPS est améliorée grâce à l'utilisation d'une carte d'acquisition et d'une sonde échographique multi-élément, cette dernière permettant d'évoluer vers un système d'imagerie multi-modale qui associe la technique acousto-optique à l'appareil d'imagerie ultrasonore Aixplorer<sup>®</sup>. Les performances de l'imagerie acousto-optique et sa complémentarité avec l'imagerie ultrasonore sont mises en relief à travers des expériences réalisées *ex vivo* sur des tumeurs chez la souris ou sur des biopsies de foie humain contenant des métastases. Enfin, des essais effectués sur des échantillons de blanc de poulet révèlent le potentiel de l'imagerie acousto-optique dans le suivi de la création de lésions thermiques par ultrasons focalisés de grande intensité.

**Mots clés :** Imagerie acousto-optique, Imagerie ultrasonore, Milieu diffusant, Holographie numérique, Holographie photoréfractive.



Spatially resolved optical imaging of biological tissues' depth is hampered by multiple scattering of light. Combining ultrasound localization with detection of scattered light, acousto-optic imaging provides a millimetric resolution by dealing with the "tagged" photons that are spectrally shifted of the ultrasound frequency and come from the acoustic focus confined area. Although the signal is weak and difficult to separate from simply scattered light, several techniques for coherent or incoherent detection exist and are able to produce high-quality images of the optical contrast through several inches thick scattering media. Acousto-optic imaging has already been tested for almost 20 years on calibrated samples mimicking the optical properties of tissues. However, it remains practically unknown in the medical community because examples of applications on actual diseases are missing.

This thesis presents the latest enhancements to both coherent detection techniques we use which consist in digital and photorefractive holography. A method for resolution control along the ultrasound propagation axis is implemented on the digital holographic system, based on a quickly varying random phase modulation that causes the reduction of the signal coherence area. As for photorefractive holography, we demonstrate the possibility to perform this type of detection without any optical reference beam on a BSO crystal at 532 nm. In parallel, photorefractive detection speed at 780 nm with a SPS crystal is improved thanks to the use of an acquisition card and a multi-element ultrasound probe. The latter allows to move towards a multi-modal imaging system which combines the acousto-optic technique with Aixplorer<sup>®</sup> ultrasound imaging device. Acousto-optic imaging performance and complementarity to ultrasound imaging are highlighted through *ex vivo* experiments carried out on mice tumors or human liver biopsies containing metastasis. Finally, tests performed on chicken breast samples show the ability of acousto-optic imaging to monitor the creation of thermal lesions caused by high intensity focused ultrasound.

**English title :** Acousto-optic imaging of thick scattering media : from technical enhancement to *ex vivo* preclinical application.

**Keywords :** Ultrasound-modulated optical tomography, Ultrasound imaging, Turbid media, Digital holography, Photorefractive holography.



# Table des matières

<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>1 À la recherche de l'information optique dans les tissus biologiques</b>	<b>3</b>
1.1 Techniques d'imagerie biomédicale du contraste optique . . . . .	4
1.1.1 Propriétés optiques des tissus . . . . .	4
1.1.2 Détection de la lumière diffuse . . . . .	6
1.1.3 Détection ultrasonore : imagerie photo-acoustique . . . . .	10
1.2 Imagerie acousto-optique . . . . .	12
1.2.1 Principe . . . . .	12
1.2.2 Détection incohérente . . . . .	16
1.2.3 Détection cohérente . . . . .	18
1.2.4 Applications et performances actuelles . . . . .	20
1.3 Conclusion . . . . .	23
<b>2 Tomographie acousto-optique cohérente par détection holographique hétéro-</b>	<b>25</b>
<b>dyne hors axe</b>	
2.1 Détection des photons marqués par holographie numérique hétérodyne hors axe .	26
2.1.1 Principe de l'holographie . . . . .	26
2.1.2 Filtrage temporel . . . . .	28
2.1.3 Filtrage spatial . . . . .	31
2.1.4 Extraction du signal des photons marqués . . . . .	34
2.2 Résolution axiale par modulation de phase aléatoire . . . . .	36
2.2.1 Techniques de résolution axiale existantes . . . . .	36
2.2.2 Principe de la Tomographie Acousto-Optique Cohérente . . . . .	38
2.3 Réalisation expérimentale . . . . .	41
2.3.1 Montage expérimental . . . . .	41
2.3.2 Sensibilité expérimentale de l'holographie hétérodyne hors axe . . . . .	43
2.3.3 Contrôle de la résolution axiale . . . . .	47
2.3.4 Performances d'imagerie en trois dimensions . . . . .	49
2.4 Conclusion . . . . .	50
<b>3 Imagerie acousto-optique par holographie photoréfractive</b>	<b>53</b>
3.1 Effet photoréfractif . . . . .	54
3.1.1 Principe . . . . .	54
3.1.2 Champ de charge d'espace . . . . .	55
3.1.3 Réseau d'indice de réfraction . . . . .	57
3.1.4 Caractéristiques de l'effet photoréfractif . . . . .	59
3.2 Détection standard du signal acousto-optique dans un cristal photoréfractif . . . .	60
3.2.1 Mélange à deux ondes . . . . .	61
3.2.2 Détection du signal acousto-optique . . . . .	63

3.2.3	Configuration expérimentale de détection avec cristal de SPS . . . . .	65
3.3	Holographie photoréfractive auto-référencée dans un cristal de BSO . . . . .	69
3.3.1	Création de l'hologramme auto-référencé . . . . .	70
3.3.2	Filtre de corrélation pour les photons marqués . . . . .	73
3.3.3	Résultat expérimental . . . . .	74
3.4	Conclusion . . . . .	76
<b>4</b>	<b>Imagerie bimodale des tissus pour le diagnostic et le suivi thérapeutique</b>	<b>77</b>
4.1	Couplage de l'échographe Aixplorer® avec l'imagerie acousto-optique par holographie photoréfractive . . . . .	78
4.1.1	Échographe Aixplorer® de Supersonic Imagine . . . . .	79
4.1.2	Association avec l'imagerie acousto-optique sur cristal de SPS . . . . .	81
4.1.3	Intérêt du couplage . . . . .	83
4.2	Imagerie <i>ex vivo</i> de tissus cancéreux . . . . .	84
4.2.1	Carcinomes ectopiques du côlon chez la souris . . . . .	84
4.2.2	Biopsies de foie humain avec mélanomes . . . . .	89
4.3	Suivi de thérapie ultrasonore par imagerie acousto-optique . . . . .	95
4.3.1	Contraste optique de lésions thermiques créées par HIFU . . . . .	96
4.3.2	Suivi de la création de lésions thermiques par profil acousto-optique . . . . .	98
4.3.3	Vers un suivi en deux dimensions de la création de lésions thermiques . . . . .	101
4.4	Conclusion . . . . .	102
<b>5</b>	<b>Prémices d'imagerie quantitative et de comparaison des systèmes de détection</b>	<b>105</b>
5.1	Mesure des propriétés optiques des tissus par imagerie acousto-optique . . . . .	106
5.1.1	Relation expérimentale entre le signal acousto-optique et les coefficients optiques du milieu . . . . .	106
5.1.2	Sensibilité . . . . .	108
5.1.3	Méthodes existantes . . . . .	110
5.2	Modèle théorique de profil acousto-optique . . . . .	111
5.2.1	Mise en équation du problème . . . . .	111
5.2.2	Résolution et approximations . . . . .	114
5.2.3	Confrontation à l'expérience et à la simulation de Monte-Carlo . . . . .	116
5.3	Comparaison des systèmes de détection pour l'imagerie acousto-optique . . . . .	117
5.3.1	Détection par holographie numérique en régime impulsif . . . . .	117
5.3.2	Configuration des autres techniques et conditions expérimentales . . . . .	118
5.3.3	Comparaison des performances sur un gel test . . . . .	119
5.3.4	Conclusion . . . . .	121
	<b>Conclusions et perspectives</b>	<b>123</b>
<b>A</b>	<b>Réglage du montage d'holographie numérique hors axe</b>	<b>127</b>
<b>B</b>	<b>Caractérisation de la caméra <i>Photron SA<sub>4</sub></i></b>	<b>129</b>
<b>C</b>	<b>Normes biomédicales</b>	<b>133</b>
	<b>Références</b>	<b>135</b>
	<b>Communications scientifiques</b>	<b>147</b>

L'optique biomédicale est un domaine en plein développement car elle offre de nombreuses voies d'exploration des tissus à travers des techniques d'imagerie prometteuses pour le suivi ou le diagnostic de maladies. En particulier, beaucoup d'espoirs sont fondés sur l'imagerie optique pour la détection précoce du cancer car les techniques de dépistage conventionnelles telles que l'imagerie par rayons X, l'échographie ou l'imagerie par résonance magnétique souffrent d'un taux de détection faible pour des tumeurs de taille inférieure au millimètre. En effet, l'imagerie optique donne accès à une information riche renseignant à la fois sur des changements fonctionnels et structuraux des tissus et ce, avec une bonne résolution pouvant descendre en dessous du nanomètre. La grande sensibilité n'est qu'un de ces nombreux atouts car il s'agit également d'une technique non ionisante, peu coûteuse et rapide. L'imagerie optique peut donc aisément être envisagée comme un examen médical de routine mais aussi comme un complément d'autres techniques en l'insérant dans une plateforme d'imagerie multimodale.

Néanmoins, l'imagerie optique est encore peu présente au niveau clinique. Cette réalité s'explique par la faible profondeur de l'information accessible en raison des fortes propriétés de diffusion optique des tissus. En effet, avec des techniques comme la microscopie ou la tomographie à cohérence optique, la profondeur d'imagerie est limitée à 1 ou 2 mm car seule la lumière balistique, n'ayant subi aucune diffusion, est détectée afin de garantir une résolution micrométrique à nanométrique. D'autres systèmes prennent le parti de détecter la lumière diffuse pour gagner en profondeur d'imagerie au détriment de la résolution. Ainsi, la spectroscopie proche infrarouge tire profit de la bonne pénétration de la lumière infrarouge située dans la fenêtre thérapeutique optique spectrale, où l'absorption des tissus est minimale, pour imager sur quelques centimètres sous la surface des tissus avec une résolution au demi-centimètre.

L'imagerie acousto-optique est née de la motivation d'allier la profondeur et la résolution de l'information optique détectée. Cette technique combine lumière et ultrasons pour offrir la richesse de l'information optique avec une résolution gouvernée par l'acoustique. Depuis ses débuts en 1993, l'imagerie acousto-optique a connu 20 ans de développement axés sur l'amélioration de la qualité d'image, de la résolution et de la rapidité. L'Institut Langevin et anciennement, le Laboratoire d'Optique Physique de l'École Supérieure de Physique et de Chimie Industrielles de la Ville de Paris (ESPCI) travaillent sur l'imagerie acousto-optique depuis environ 15 ans et ont participé à la mise en œuvre de nouvelles méthodes de détection du signal acousto-optique telle que l'holographie photoréfractive et de techniques permettant de gagner en résolution, en particulier dans l'axe de propagation des ultrasons. Aujourd'hui, l'imagerie acousto-optique a déjà bien fait ses preuves sur des gels aux propriétés de diffusion et d'absorption calibrées pour imiter celles des



tissus biologiques. Elle mérite donc d'être testée sur des échantillons plus proches de l'application clinique comme des petits animaux ou des prélèvements de tissus. Tout en continuant à perfectionner la technique acousto-optique, l'objectif de notre équipe est de démontrer son potentiel sur des applications médicales ce qui nécessite d'établir des partenariats avec des hôpitaux et de multiplier les essais d'imagerie sur des échantillons représentatifs de pathologies réelles.

Sur le plan de l'amélioration technique, trois procédés holographiques de détection du signal acousto-optique sont présentés dans ce manuscrit. Deux d'entre eux, à savoir l'holographie numérique hétérodyne hors axe et l'holographie photoréfractive standard en mélange à deux ondes, sont déjà bien maîtrisés mais sont ici modifiés pour accroître leurs performances. L'holographie hétérodyne hors axe est complétée par une méthode de modulation de phase aléatoire de la lumière et des ultrasons pour gagner en résolution. Le système de détection par holographie photoréfractive est, quant à lui, couplé à un échographe qui, non seulement ajoute une modalité d'imagerie, mais aussi augmente la vitesse d'acquisition du signal acousto-optique. La troisième technique de détection est l'holographie photoréfractive auto-référencée, qui est une nouveauté dans le domaine de l'imagerie acousto-optique.

Dans un deuxième temps, le manuscrit rapporte des cas d'imagerie concrets réalisés avec la méthode de détection par holographie photoréfractive standard, privilégiée pour sa rapidité. Bénéficiant de l'association avec un échographe Aixplorer<sup>®</sup> de la société Supersonic Imagine, l'imagerie proposée n'est plus seulement optique mais aussi acoustique. Des tissus cancéreux de souris et humains sont ainsi imagés *ex vivo*. L'intérêt de l'imagerie acousto-optique dans le suivi de création de lésions thermiques est également démontré.

Pour clore le manuscrit, des perspectives sont ouvertes sur la capacité de l'imagerie acousto-optique à fournir une caractérisation quantitative des propriétés optiques des tissus. Dans ce domaine, l'aide des théoriciens est indispensable afin de comparer la loi empirique à la simulation. Enfin, dans l'idée de développer dans un futur proche un prototype clinique, une comparaison des techniques de détection est réalisée pour savoir laquelle privilégier.

---

## À la recherche de l'information optique dans les tissus biologiques

---

### Table des matières

1.1	Techniques d'imagerie biomédicale du contraste optique . . . . .	<b>4</b>
1.1.1	Propriétés optiques des tissus . . . . .	4
1.1.2	Détection de la lumière diffuse . . . . .	6
1.1.3	Détection ultrasonore : imagerie photo-acoustique . . . . .	10
1.2	Imagerie acousto-optique . . . . .	<b>12</b>
1.2.1	Principe . . . . .	12
1.2.2	Détection incohérente . . . . .	16
1.2.3	Détection cohérente . . . . .	18
1.2.4	Applications et performances actuelles . . . . .	20
1.3	Conclusion . . . . .	<b>23</b>

---

Les premières tentatives d'imagerie optique des tissus remontent au 19<sup>e</sup> siècle et consistaient à éclairer un organe à la lumière d'une bougie ou du jour et à observer à l'œil la lumière en ressortant par transmission. Le cerveau [1], les testicules [2] et le sein [3] ont ainsi été examinés. Cependant, dès ces premières expériences, les scientifiques ont été confrontés à la difficulté d'imager nettement en profondeur en raison des fortes propriétés de diffusion des tissus. L'utilité clinique de l'imagerie optique directe ayant été mise en doute sur une étude de tumeurs du sein [4], celle-ci a été quelque peu délaissée au profit d'autres techniques comme l'imagerie par rayons X. Depuis une quinzaine d'années, l'optique biomédicale suscite à nouveau l'intérêt des chercheurs et des médecins et se développe selon deux stratégies. La première est de sélectionner la lumière balistique, qui n'a pas subi de diffusion. Cette méthode est limitée en profondeur d'exploration en raison de la faiblesse du signal. La seconde stratégie, basée sur l'étude de la lumière diffuse, vise au contraire une caractérisation en profondeur des tissus. Elle souffre d'une résolution réduite qui tend à s'améliorer grâce à l'association avec d'autres types d'ondes telles que les ondes acoustiques. Ce chapitre donne un aperçu des méthodes existantes permettant d'imager les propriétés optiques des tissus avant de détailler plus particulièrement la technique qui fait l'objet de cette thèse : l'imagerie acousto-optique.

## 1.1 Techniques d'imagerie biomédicale du contraste optique

### 1.1.1 Propriétés optiques des tissus

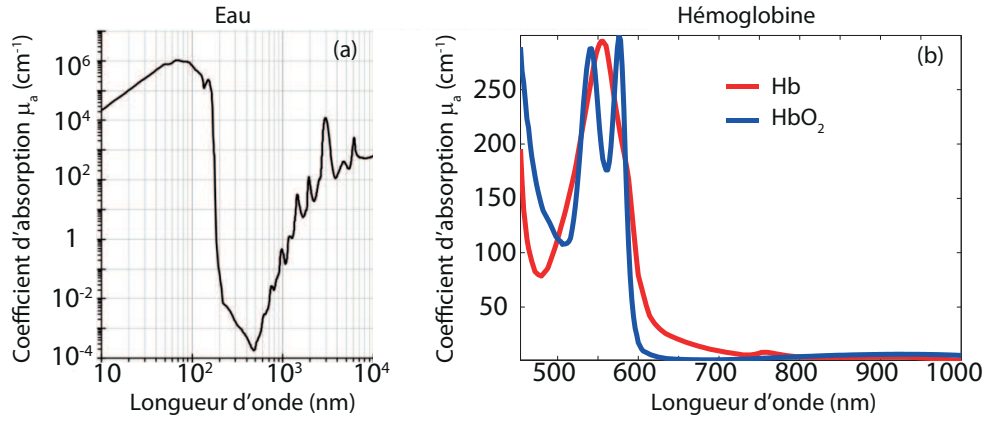
La distribution de lumière dans un milieu dépend de ses propriétés d'absorption et de diffusion.

**Absorption** L'absorption d'un milieu est caractérisée par le coefficient d'absorption  $\mu_a$ . Pour un milieu non diffusant, la loi de Beer-Lambert relie le niveau de transmission de la lumière balistique au coefficient d'absorption par l'égalité suivante :

$$I_T(d) = I_0 \exp(-\mu_a d) \quad (1.1)$$

où  $I_T$  est le flux lumineux transmis,  $I_0$  le flux incident et  $d$  l'épaisseur traversée.

Le constituant majoritaire des tissus est l'eau dont le coefficient d'absorption augmente avec la longueur d'onde dans le visible et l'infrarouge, comme le montre la figure 1.1(a). Il semble donc préférable de travailler aux petites longueurs d'ondes. Cependant, l'hémoglobine présente un coefficient d'absorption supérieur de trois ordres de grandeur à celui de l'eau pour les longueurs d'onde inférieures à 600 nm (figure 1.1(b)). Par conséquent, les propriétés d'absorption des tissus contraignent à imager avec de la lumière rouge ou proche infrarouge. La région du spectre située entre 600 et 1300 nm est appelée "fenêtre thérapeutique optique". L'absorption globale y est minimale et le coefficient  $\mu_a$  est inférieur à  $0,5 \text{ cm}^{-1}$ , ce qui explique qu'un tissu fin tel que la joue ou la main, éclairé en lumière blanche, apparaît rouge.



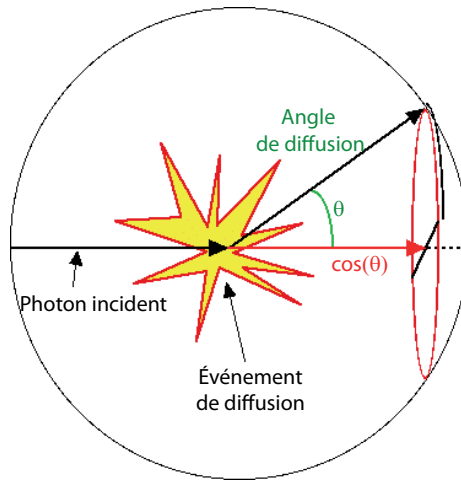
**Figure 1.1** – Spectres d'absorption de l'eau (a) et de l'hémoglobine (b).

**Diffusion** Le principal obstacle à l'imagerie optique des tissus est la diffusion multiple. Celle-ci impose aux photons une trajectoire aléatoire qu'il est difficile de déduire de leur seule position en sortie du milieu. Il en résulte une perte de localisation de l'information optique.

La diffusion est provoquée par une variation de l'indice optique, caractéristique de la structure du milieu alors que l'absorption est davantage liée à la composition moléculaire. La diffusion est généralement décrite par les théories de Rayleigh pour une particule petite devant la longueur d'onde, ou de Mie pour de plus grandes particules. Cependant, ces modèles ne s'appliquent pas aux tissus car ces derniers sont constitués de structures de tailles variées. La diffusion est alors caractérisée à l'échelle macroscopique par le coefficient de diffusion  $\mu_s$ , dont la définition rappelle celle du coefficient d'absorption. En effet, dans le cas d'un milieu diffusant de coefficient  $\mu_s$  non absorbant, le flux  $I_T$  transmis de façon balistique, c'est-à-dire sans avoir été diffusé, après une distance  $d$  parcourue s'écrit :

$$I_T(d) = I_0 \exp(-\mu_s d) \quad (1.2)$$

L'inverse du coefficient de diffusion est le libre parcours moyen de diffusion  $l_s = \frac{1}{\mu_s}$  et correspond à la distance moyenne parcourue par un photon entre deux événements de diffusion.

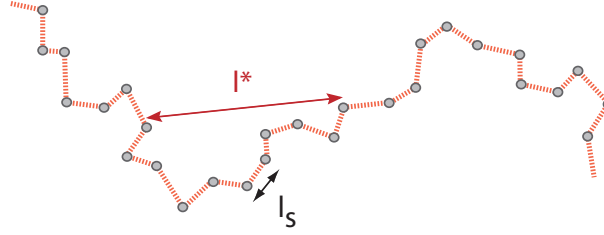


**Figure 1.2** – Schéma de l'anisotropie de diffusion, tiré de [5].

**Anisotropie** Comme schématisé sur la figure 1.2, un événement de diffusion dévie la lumière incidente d'un angle  $\theta$  par rapport à sa direction incidente. Pour comptabiliser la portion de

lumière transmise dans la direction initiale d'incidence, le facteur d'anisotropie  $g$  est défini comme la moyenne du cosinus des angles de diffusion  $\theta$  :  $g = \langle \cos(\theta) \rangle$ .

Le coefficient de diffusion réduit  $\mu'_s = \mu_s(1 - g)$  rend compte de cette dépendance angulaire. Son inverse  $l^* = \frac{1}{\mu'_s}$  est appelé libre parcours moyen de transport et équivaut à la distance moyenne effectuée par un photon avant de perdre sa direction initiale de propagation. La figure 1.3 en donne une représentation schématique. Dans les tissus biologiques, la diffusion se fait principalement vers l'avant et le facteur d'anisotropie  $g$  varie entre 0,7 et 0,9. Le libre parcours moyen de transport vaut environ 1 mm [6].



**Figure 1.3** – Représentation schématique du libre parcours moyen de transport  $l^*$ .  $l_s$  est le libre parcours moyen de diffusion.

**Atténuation** Dans un milieu turbide et non transparent, l'atténuation de la lumière sur une distance  $d$  est une conséquence de l'absorption et de la diffusion. Pour caractériser la transmission de lumière balistique, on définit le coefficient d'extinction  $\mu_t = \mu_a + \mu_s$  tel que :

$$I_T(d) = I_0 \exp(-\mu_t d) \quad (1.3)$$

Enfin, on peut définir le coefficient d'extinction effectif  $\mu_{eff} = \sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)}$  qui décrit l'atténuation de la lumière totale  $I_{T,tot}$  selon la loi suivante [6] :

$$I_{T,tot}(d) = I_0 \exp(-\mu_{eff} d) \quad (1.4)$$

Le coefficient  $\mu_{eff}$  prend en considération l'atténuation de la lumière balistique mais aussi la lumière qui se retrouve dans la direction d'incidence après avoir subi de multiples événements de diffusion.

### 1.1.2 Détection de la lumière diffuse

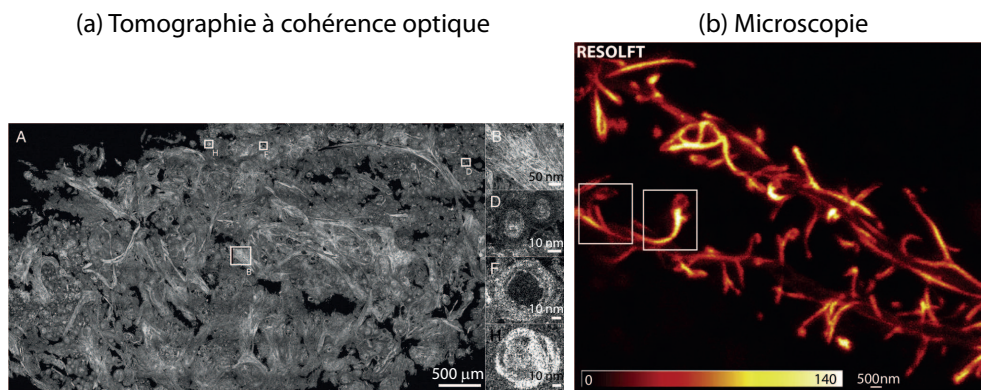
**Imagerie de profondeur** L'imagerie optique a longtemps privilégié les techniques de détection des photons balistiques telles que la microscopie ou la tomographie à cohérence optique (OCT) pour leur résolution microscopique [7]. Cependant, ces méthodes exploitent un signal de très faible amplitude en raison de la décroissance exponentielle de la transmission à travers les tissus, ce qui limite l'exploration à quelques centaines de  $\mu m$ , voire 1 cm en incluant les photons serpentines<sup>1</sup>. En effet, après 1 cm de tissu traversé, la transmission de la lumière balistique est réduite à  $10^{-22}$  alors que la transmission de la lumière diffuse vaut  $0,3^2$  ! Les images de la figure 1.4 obtenues en

1. Les photons sont dits serpentines lorsque leur trajectoire s'éloigne très peu de la ligne droite. Ces photons ont subi seulement un ou deux événements de diffusion.

2. Cette estimation se base sur les coefficients suivants, souvent rencontrés dans la littérature pour caractériser les tissus à 800 nm :  $\mu_a = 0,05 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\mu'_s = 10 \text{ cm}^{-1}$  et  $g = 0,8$ .

imagerie balistique présentent une résolution impressionnante mais à des profondeurs d'imagerie qui ne sont que quelques centaines de micromètres sous la surface de l'échantillon.

Pour explorer les propriétés optiques des tissus en profondeur, il est donc nécessaire de travailler avec la lumière diffuse. Tirant profit de la fenêtre thérapeutique optique pour atteindre une profondeur maximale dans les tissus, F. Jöbsis réalise en 1977 la première expérience de spectroscopie proche infrarouge *in vivo* sur le cerveau humain sans chirurgie et sur le cœur d'un chien rendu accessible par chirurgie [8]. Cette technique, plus communément appelée NIRS pour l'anglais "Near InfraRed Spectroscopy", consiste à détecter la lumière transmise à travers les tissus entre un émetteur et un détecteur ponctuels situés en surface, pour plusieurs longueurs d'onde. Depuis les premières utilisations du NIRS, plusieurs approches ont été adoptées pour améliorer la profondeur, la résolution et la rapidité de mesure. Elles se divisent en trois catégories : le NIRS en éclairage continu (NIRS-CW), le NIRS temporel (NIRS-TD) et le NIRS fréquentiel (NIRS-FD).

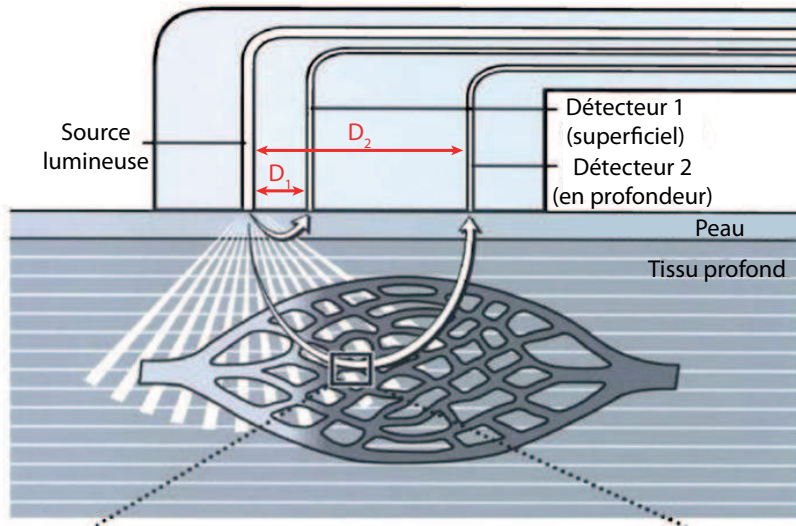


**Figure 1.4** – Exemples d'images obtenues en détection des photons balistiques. (a) Image d'une biopsie de méningiome (tumeur du cerveau) d'épaisseur millimétrique par tomographie à cohérence optique, tirée de [9]. (b) Image de dendrites par microscopie RESOLFT, inspirée de la technique STED, tirée de [10].

**NIRS en éclairage continu** Cette méthode nécessite une source lumineuse continue, d'amplitude constante. L'application la plus répandue du NIRS-CW est l'étude de l'hémodynamique et des variations du taux d'oxygénation dans les couches superficielles des tissus ou du cerveau. Ce type de mesure localisée porte le nom de topographie optique et s'oppose à la tomographie optique dont le résultat est une image à deux ou trois dimensions, connue sous le sigle DOT (*Diffuse Optical Tomography*). La topographie optique implique une distance faible entre l'émetteur et le détecteur  $D$  de l'ordre de 20 à 30 mm qui permet l'inspection d'une zone située à environ  $D/2$  sous la surface du tissu. Comme ils proviennent de la surface, les signaux sont relativement forts et peuvent être enregistrés rapidement par une photodiode par exemple, ce qui garantit le suivi de variations sur un temps caractéristique d'une dizaine de microsecondes. En multipliant le nombre de sources et de détecteurs, une cartographie des mesures topographiques est élaborée. De plus, pour éviter d'allonger le temps d'acquisition, les sources lumineuses sont modulées en intensité à des fréquences différentes et les diverses contributions sont séparées au niveau des capteurs grâce à une détection synchrone [11] ou un traitement suivi d'un filtrage dans le domaine de Fourier [12]. Il existe un système commercial de topographie optique (*Hitachi ETG-7000*) capable de couvrir le cortex entier chez l'adulte à l'aide d'une matrice de 40 paires de sources (à deux longueurs d'onde différentes) et 40 détecteurs. Des systèmes de tomographie optique commerciaux ont également vu le jour en espaçant davantage les sources des détecteurs pour une mesure plus en profondeur [13]. La mesure par NIRS-CW reflète l'atténuation des tissus mais ne différencie pas les propriétés



d'absorption et de diffusion.



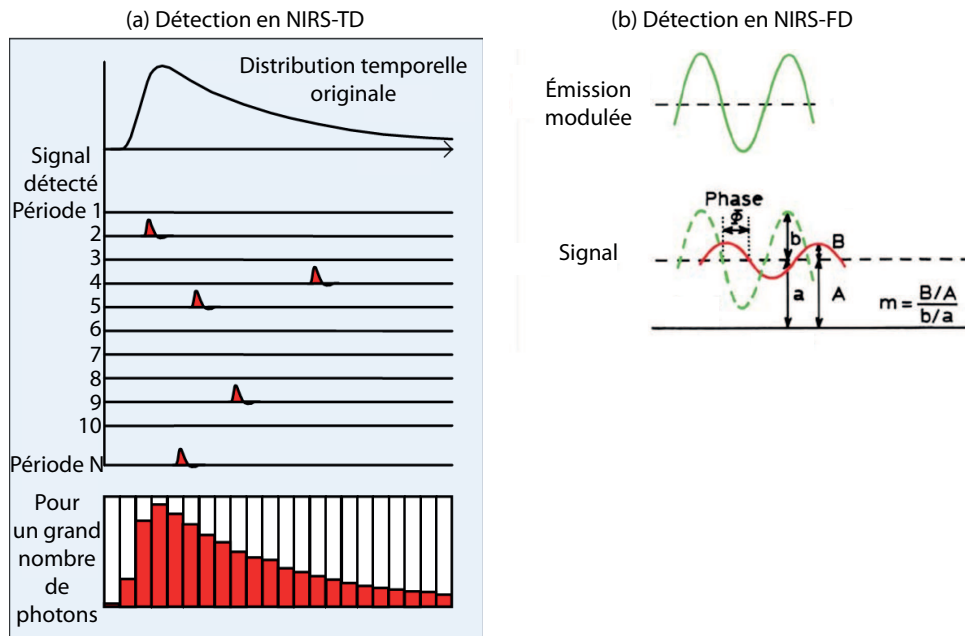
**Figure 1.5** – Principe de la spectroscopie optique diffuse. Lorsque la source et le détecteur sont proches (distance  $D_1$ ), seules les couches superficielles des tissus sont sondées. En les éloignant (distance  $D_2$ ), l'information optique des tissus profonds est recueillie.

**NIRS temporel** Comme le NIRS fréquentiel, que nous décrirons au paragraphe suivant, cette technique permet d'imager plus profondément avec une meilleure résolution en tirant profit du fait que plus les photons sont diffusés, plus leur temps de trajet est long. Ainsi, la sélection des premiers photons arrivant sur le détecteur assure une meilleure localisation de l'information. La mise en œuvre du NIRS-TD repose sur l'utilisation d'une source à impulsions très courtes (quelques picosecondes) et l'enregistrement de la distribution temporelle des photons diffusés qui s'étend alors sur quelques nanosecondes. La difficulté de cette technique réside dans le choix d'un détecteur suffisamment rapide, large bande et sensible tel qu'un compteur de photons uniques corrélés en temps. Initialement, la technique NIRS-TD était utilisée uniquement pour sélectionner les premiers photons arrivés puis elle a servi à discriminer les effets de l'absorption et de la diffusion en séparant les derniers photons arrivés, touchés essentiellement par l'absorption, des premiers dont la trajectoire résulte d'un effet combiné de l'absorption et de la diffusion [14]. Les premières applications cliniques de mesures NIRS résolues en temps ont été effectuées sur le crâne de nouveau-nés [15].

**NIRS fréquentiel** La technique NIRS-FD est la transposition du NIRS-TD dans le domaine des fréquences temporelles. Au lieu de mesurer un temps de parcours, elle mesure le déphasage et la baisse d'intensité introduits par le milieu sur la lumière issue d'une source modulée en amplitude à quelques centaines de MHz. Le NIRS-FD requiert un matériel moins coûteux que le NIRS-TD. Cependant, l'information enregistrée en NIRS-TD est plus riche car elle permet une meilleure différenciation de la contribution de l'absorption et de la diffusion [16] ainsi qu'une discrimination en profondeur [17].

**Tomographie Optique Diffuse (DOT)** La technique DOT, initiée par Arridge et al. [18], désigne plus qu'une spectroscopie NIRS en trois dimensions car elle vise une caractérisation quantitative des propriétés optiques des tissus. Pour différencier l'absorption et la diffusion, une mesure d'intensité seule ne suffit pas et il est nécessaire de connaître le chemin parcouru par les photons

détectés. Le développement des méthodes de NIRS temporel et fréquentiel ont permis d'accéder à cette dernière information. L'estimation quantitative des propriétés optiques passe alors par la résolution d'un problème inverse. D'abord un modèle réaliste de propagation des photons de la source au détecteur en passant par les tissus est construit. La distribution spatiale des coefficients d'absorption et de diffusion des tissus sont entrés en paramètres du modèle. Puis un ajustement itératif de ces paramètres est effectué jusqu'à ce que la mesure simulée par le modèle corresponde à l'expérience réelle. Les calculs numériques mis en jeu dans la résolution du problème inverse sont relativement fastidieux et chronophages. En effet, pour une imagerie balistique telle que la tomographie par rayons X, le problème inverse se limite à des intégrales à une dimension mais pour l'imagerie optique diffuse, la résolution est plus complexe car les intégrales sont volumiques.



**Figure 1.6** – Techniques de détection pour le NIRS-TD et le NIRS-FD : (a) Mesure du temps de parcours des photons, image tirée de [19], (b) Mesure du déphasage  $\Phi$  et de la démodulation  $m$ , image tirée de [20].

L'efficacité de la topographie optique à extraire une information sur le flux sanguin et l'oxygénation des tissus a été démontrée sur des études du cerveau [21, 22], du sein [23] et du muscle du bras [24]. Par exemple, les tumeurs du sein, supposées détectables par les méthodes optiques pour leur plus forte concentration sanguine (zone d'angiogénèse), ont effectivement un coefficient d'absorption  $\mu_a$  mesuré deux à quatre fois supérieur à celui des tissus environnants [14]. L'appareil d'imagerie optique diffuse résolue en temps SoftScan, produit par la société canadienne ART, est actuellement commercialisé et utilisé cliniquement au Canada et en Europe. Sa validation clinique a démontré qu'il améliore la sensibilité et la spécificité du diagnostic du cancer du sein [25]. La tomographie optique diffuse est beaucoup utilisée pour imager les zones d'activation du cerveau en réponse à une tâche donnée. La résolution de ce type d'imagerie est améliorée en densifiant le réseau d'émetteurs et de récepteurs optiques pour augmenter les zones de recouvrement entre les mesures faisant appel à des couples source-détecteur différents [26]. Une résolution de 3 mm a ainsi été atteinte par Boas et al. dans le cadre de l'imagerie du cerveau sur 1,5 à 2 cm de profondeur [27].



**Nouvelles modalités du NIRS** Au début des années 2000 est apparue l'imagerie optique diffuse de fluorescence (FDOT) dans l'idée de mesurer la concentration de traceurs fluorescents dans l'organisme. Par exemple, le vert d'indocyanine, jugé non toxique pour l'individu, est souvent utilisé pour améliorer la visualisation du système vasculaire. La technique de mesure est semblable au NIRS classique si ce n'est que des filtres sont nécessaires en détection pour sélectionner la contribution de fluorescence, décalée en longueur d'onde par rapport à la source. D'après les essais réalisés *in vivo* sur le sein par Corlu et al., la détection par fluorescence augmente d'un facteur 2 à 4 le contraste entre la tumeur et les tissus sains [28]. Par ailleurs, s'inspirant des techniques émergentes combinant ultrasons et lumière pour améliorer la résolution d'imagerie, Bratchenia et al. ont récemment introduit le concept de la tomographie optique diffuse assistée par acousto-optique [29]. Seuls les photons marqués par les ultrasons, issus d'une zone de taille réduite, participent à la reconstruction par résolution du problème inverse du transport de la lumière. Plusieurs mesures sont effectuées pour différentes zones de marquage correspondant à différentes positions du foyer ultrasonore. Cette combinaison astucieuse permet de multiplier la résolution de l'imagerie optique diffuse par 10.

La spectroscopie optique diffuse est donc adaptée à une mesure locale de contraste optique mais les images en deux ou trois dimensions restent encore lentes à acquérir et leur meilleure résolution est limitée à 0,5 cm. Comme nous venons de le voir, il est possible d'associer deux types d'ondes, acoustique et optique, pour améliorer la résolution. Deux techniques se distinguent sur ce créneau, à savoir l'imagerie acousto-optique, qui est le sujet de cette thèse et sera donc expliquée en détails plus loin dans le manuscrit, et l'imagerie photo-acoustique, décrite dans la partie suivante.

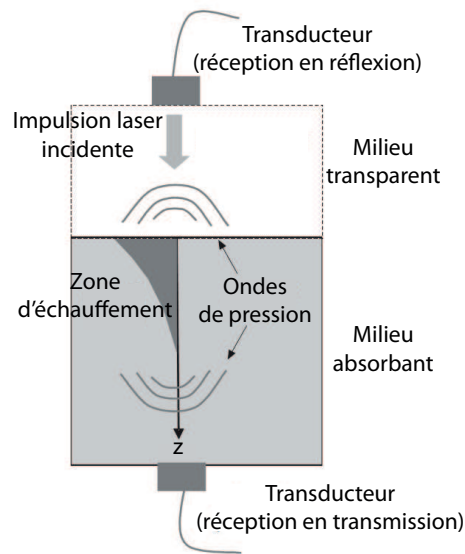
### 1.1.3 Détection ultrasonore : imagerie photo-acoustique

La diffusion acoustique dans les tissus est 100 à 1000 fois plus faible que la diffusion optique. Ce constat souligne l'intérêt de combiner les deux types d'ondes, dans des méthodes telles que la photo-acoustique ou l'acousto-optique, qui imagent un contraste optique tout en profitant de la résolution et de la profondeur de pénétration des ultrasons.

**Principe** L'effet photo-acoustique, découvert en 1880 par A. Bell, correspond à la création d'une onde acoustique par absorption d'une énergie électromagnétique. On parle aussi d'effet opto-acoustique quand l'onde électromagnétique est une onde lumineuse, et d'effet thermo-acoustique quand l'excitation est radio-fréquence. Ses applications n'ont vu le jour que dans les années 1970, grâce au développement des sources laser. Lors d'une mesure photo-acoustique, une impulsion lumineuse de courte durée (5 à 10 ns) est émise dans le milieu. L'énergie portée par cette impulsion est absorbée localement et donne lieu à un léger échauffement de l'ordre du millikelvin. La variation de température induit l'excitation d'ondes acoustiques par effet thermo-élastique. Contrairement aux techniques NIRS évoquées précédemment ou à l'imagerie acousto-optique, le signal détecté est acoustique et est donc généralement recueilli par un transducteur piézoélectrique. Il renseigne sur les propriétés optiques locales du tissu au niveau de la zone d'absorption, mais aussi sur ses propriétés thermiques et élastiques.

**Systèmes de mesure** Il existe deux types d'imagerie photo-acoustique : la tomographie photo-acoustique numérique (PACT) et la microscopie photo-acoustique (PAM). La première technique calcule une image à partir d'une mesure globale de l'onde acoustique par une matrice de transducteurs non focalisés et d'algorithmes de reconstruction [30] alors que la deuxième acquiert un signal

point par point à l'aide d'un transducteur focalisé dans la zone d'excitation lumineuse et aboutit à une image en parcourant l'échantillon. La technique PACT peut être réalisée avec un simple transducteur mono-élément. Cependant, comme l'onde acoustique émanant de la zone d'absorption se propage dans toutes les directions, l'utilisation de matrices linéaires ou circulaires de transducteurs, améliore considérablement la sensibilité et la rapidité du système. La technique devient alors suffisamment rapide pour suivre en temps réel le battement cardiaque de petits animaux par exemple [31]. Avec le système PAM, il est possible d'imager de 0,7 à 30 *mm* de profondeur selon la fréquence acoustique utilisée en détection (de 75 à 3,5 *MHz*) avec une résolution variable entre 5 et 150  $\mu\text{m}$  [31, 32].



**Figure 1.7** – Principe de l'imagerie photo-acoustique, image tirée de [33].

**Applications** En détection de contrastes d'absorption endogènes tels que la mélanine ou l'hémoglobine, la technique photo-acoustique est capable d'imager *in vivo*, avec une bonne résolution, le système vasculaire incluant les capillaires [32, 34], une tumeur [35], ou certains organes du petit animal [36]. Elle permet également d'accéder à une information fonctionnelle telle que la concentration en hémoglobine ou son taux d'oxygénation en multipliant les longueurs d'onde optiques d'excitation [37]. Il est également fréquent d'utiliser des agents de contraste exogènes comme des colorants organiques ou des nanoparticules d'or [38] pour amplifier le signal photo-acoustique ou pour réaliser de l'imagerie moléculaire en les liant à des bio-marqueurs [39].

Les applications de l'imagerie photo-acoustique sont donc nombreuses et connaissent actuellement un grand développement. Les succès d'imagerie *in vivo* sur de petits animaux se multiplient [40, 41] et ouvrent la voie aux essais cliniques. Récemment, une des premières études cliniques à ma connaissance a été lancée au Medisch Spectrum Twente aux Pays-Bas sur un appareil de mammographie photo-acoustique baptisé PAM pour l'anglais *PhotoAcoustic Mammoscope*. Les performances du système ont été validées en 2005 [42] et dans le cadre de l'étude clinique, 19 patientes ont déjà été examinées à l'aide du PAM depuis 2007 [43, 44]. Le taux de réussite de détection de tumeur maligne est de 100% sur des cas de tumeurs jugées fortement suspectes avec d'autres types d'imagerie.

## 1.2 Imagerie acousto-optique

Souvent confondue avec l'imagerie photo-acoustique par les non initiés, l'imagerie acousto-optique est une autre technique de détection de contrastes optiques mettant à profit les ultrasons pour atteindre une résolution millimétrique. Une compréhension plus tardive de la théorie de l'effet acousto-optique dans les milieux diffusants ainsi qu'une détection optique plus difficile à mettre en place sont deux raisons possibles pour expliquer que l'imagerie acousto-optique soit aujourd'hui à un stade expérimental moins avancé que l'imagerie photo-acoustique. Cependant, ces techniques sont suffisamment différentes pour miser sur les deux en imaginant des voies de développement clinique différentes. En outre, l'imagerie acousto-optique apporte une sensibilité supplémentaire au contraste d'absorption car elle est également capable de détecter des variations du coefficient de diffusion.

### 1.2.1 Principe

L'imagerie acousto-optique est basée, comme la technique NIRS, sur la détection optique de la lumière diffuse mais pour gagner en résolution, l'idée est de singulariser une zone réduite du milieu en "marquant" en fréquence les photons qui la traverse, à l'aide d'une onde acoustique focalisée. Le principe de cette technique est illustré par la figure 1.8.

Bien que l'effet acousto-optique, à savoir la diffraction de la lumière par une onde sonore, soit connu depuis les années 1920, l'idée de transposer cet effet au cas des milieux diffusants n'a émergé qu'à la fin des années 1980 avec un brevet déposé par D. Dolfi et F. Micheron décrivant "l'imagerie par transillumination à marquage en fréquence des photons" [45]. Les premières réalisations expérimentales de ce système d'imagerie sont le travail de Marks et al. [46] puis de Wang et al. qui ont réussi à imager un objet enfoui dans un milieu diffusant [47]. Parallèlement, Leutz et al. ont démontré expérimentalement et théoriquement l'interaction de l'onde acoustique avec la lumière multi-diffusée [48].

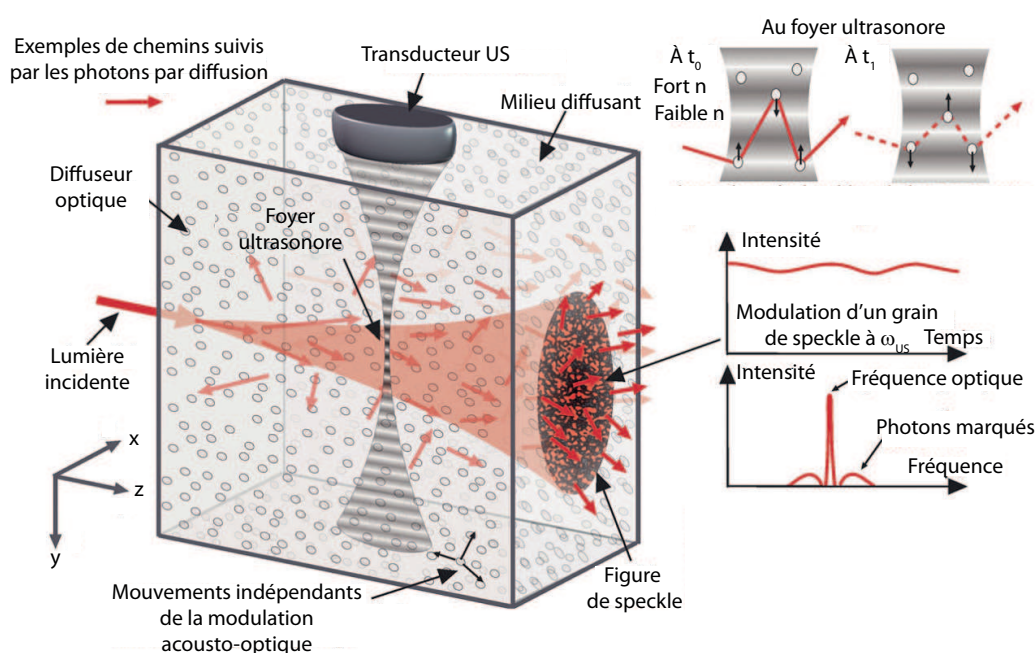
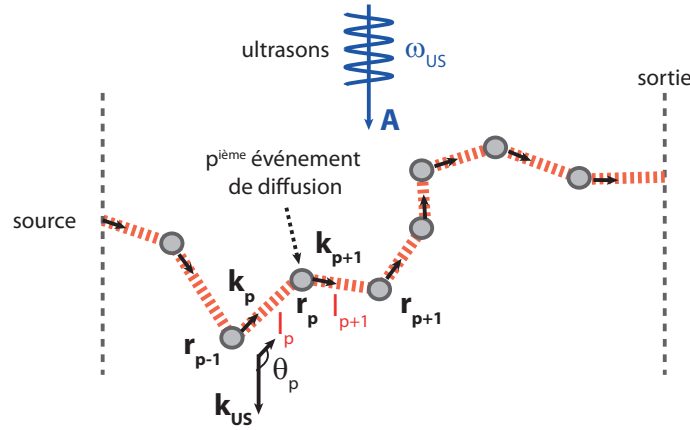


Figure 1.8 – Principe de l'imagerie acousto-optique, image tirée de [49].

**Origines du marquage acoustique** Le "marquage" acoustique se traduit par une modulation de la lumière traversant le foyer ultrasonore à la fréquence des ultrasons ( $\omega_{US}$ ). En conséquence, le spectre énergétique de la lumière sortant de l'échantillon diffusant contient une composante principale à la fréquence de la lumière incidente  $\omega_L$  ainsi que deux bandes latérales à  $\omega_L \pm \omega_{US}$  correspondant aux photons dits "marqués". Trois mécanismes ont été identifiés comme étant à l'origine de la modulation de la lumière par les ultrasons :

- **Variation des propriétés optiques globales** Le premier mécanisme est un effet incohérent lié à la variation de densité du milieu diffusant provoquée par la pression acoustique. Cette variation de densité induit une modification des propriétés optiques du milieu (indice optique, coefficients d'absorption et de diffusion) ce qui entraîne une fluctuation de l'intensité transmise. Modélisé par Mahan et al. [50], cet effet est toutefois rarement observable dans une expérience classique d'imagerie optique diffuse car il est très faible. Néanmoins, Kobayashi et al. ont tiré profit de l'existence de ce mécanisme pour marquer un rayonnement de fluorescence [51].



**Figure 1.9** – Paramètres pour la modélisation de l'effet acousto-optique.  $\omega_{US}$ ,  $\mathbf{k}_{US}$  : fréquence et vecteur d'onde acoustiques,  $\mathbf{A}$  : vecteur amplitude acoustique,  $\mathbf{r}_p$  : position du  $p^{ième}$  diffuseur,  $s_p$ ,  $\mathbf{k}_p$  : longueur et vecteur d'onde du  $p^{ième}$  libre parcours de diffusion,  $\theta_p$  : angle entre  $\mathbf{k}_p$  et  $\mathbf{k}_{US}$ .

- **Vibration des diffuseurs** Le deuxième mécanisme est le mouvement des diffuseurs qui oscillent à la fréquence acoustique en suivant l'amplitude du champ de pression au foyer ultrasonore. Ce déplacement, de l'ordre du nanomètre [52], entraîne une variation du chemin optique parcouru par la lumière entre deux événements de diffusion. Lorsque l'échantillon est éclairé en lumière cohérente, la distribution d'intensité en sortie de l'échantillon diffusant est une figure de speckle qui traduit la sommation cohérente des phases accumulées par les photons selon leurs différentes trajectoires. La variation des chemins optiques induit donc la modulation de l'intensité de speckle. Si on considère une onde plane ultrasonore créant un mouvement dans le milieu en  $\mathbf{A} \sin(\mathbf{k}_{US} \cdot \mathbf{r} - \omega_{US} t)$ , où le vecteur  $\mathbf{A}$  donne la direction et l'amplitude du déplacement et  $\mathbf{k}_{US}$  est le vecteur d'onde acoustique, le déphasage  $\Phi_{dp}$  associé à la vibration des diffuseurs au niveau du  $p^{ième}$  événement de diffusion s'écrit :

$$\Phi_{dp}(t) = -n_0 k_0 (\mathbf{k}_{p+1} - \mathbf{k}_p) \cdot \mathbf{A} \sin(\mathbf{k}_{US} \cdot \mathbf{r}_p - \omega_{US} t) \quad (1.5)$$

où  $n_0$  est l'indice optique moyen du milieu,  $k_0$  la norme du vecteur d'onde optique et  $\mathbf{k}_p$  le vecteur unitaire de propagation le long du  $p^{ième}$  libre parcours de diffusion.

- **Modulation de l'indice optique** Enfin, la modulation de l'indice de réfraction engendrée par la pression acoustique contribue également à faire varier le chemin optique et donc la phase accumulée par chaque photon. La variation de phase  $\Phi_{np}$  liée au  $p^{ième}$  libre parcours de diffusion entre les diffuseurs  $p-1$  et  $p$ , de longueur  $l_p$  s'écrit :

$$\Phi_{np}(t) = \int_0^{l_p} k_0 \Delta n(\mathbf{r}_{\mathbf{p}-1}, s_p, \theta_p, t) ds_p \quad (1.6)$$

où  $\theta_p$  est l'angle entre le vecteur d'onde du  $p^{ième}$  libre parcours de diffusion et le vecteur d'onde acoustique  $\mathbf{k}_{US}$  (voir schéma 1.9), et la variation d'indice  $\Delta n$  est donnée par :

$$\Delta n(\mathbf{r}_{\mathbf{p}-1}, s_p, \theta_p, t) = n_0 \eta k_{US} A \sin(\mathbf{k}_{US} \cdot \mathbf{r}_{\mathbf{p}-1} + k_{US} s_p \cos(\theta_p) - \omega_{US} t) \quad (1.7)$$

où  $\eta$  est relié au coefficient piézo-optique<sup>3</sup> adiabatique du milieu  $\frac{\partial n}{\partial p}$ , à la masse volumique  $\rho$  et la vitesse de l'onde acoustique  $v_{US}$  par :  $\eta = \frac{\partial n}{\partial p} \rho v_{US}^2$ .

**Modulation acousto-optique cohérente** Pour mieux comprendre l'effet de la modulation acousto-optique sur le signal détecté en sortie de l'échantillon et identifier l'importance relative des mécanismes cités précédemment, plusieurs modèles théoriques ont été développés, chaque nouveau modèle étant un raffinement du précédent pour approcher au mieux la réalité de l'expérience [48, 53–56]. Pour décrire les variations du speckle en sortie de l'échantillon diffusant, ces modèles utilisent la fonction d'autocorrélation  $G_1$  du champ lumineux, définie par :

$$G_1(\tau) = \int_0^\infty p(s) \langle E_S(t) E_S^*(t + \tau) \rangle ds \quad (1.8)$$

où  $E_S$  est le champ associé à un parcours de longueur  $s$  dans le milieu et  $p(s)$  est la densité de probabilité qu'une telle longueur de parcours se réalise. Le calcul de cette quantité  $G_1$  est pertinent dans la mesure où il conduit à l'intensité optique modulée aux harmoniques  $n \omega_{US}$ , notée  $I_n$ , grâce au théorème de Wiener-Khintchine :

$$I_n = \int_0^{2\pi/\omega_{US}} \frac{2\pi}{\omega_{US}} \cos(n \omega_{US} \tau) G_1(\tau) d\tau \quad (1.9)$$

$G_1$  reflète les variations temporelles du champ  $E$ . Les variations d'amplitude induites par le premier mécanisme incohérent sont ici négligées.  $G_1$  dépend alors uniquement des fluctuations de phase engendrées par le champ acoustique. La contribution du mouvement brownien à la phase est décorrélée de l'effet acousto-optique et peut être étudiée indépendamment. Elle ne sera pas traitée ici. En séparant les deux mécanismes influant sur la phase optique, à savoir la vibration des diffuseurs et la modulation d'indice optique, nous pouvons écrire :

$$\langle E_S(t) E_S^*(t + \tau) \rangle = \left\langle \exp \left[ -i \left( \sum_{p=1}^{s/l_s} \Delta \Phi_{dp}(t, \tau) + \sum_{p=1}^{s/l_s+1} \Delta \Phi_{np}(t, \tau) \right) \right] \right\rangle \quad (1.10)$$

où  $\Delta \Phi_{dp}(t, \tau) = \Phi_{dp}(t + \tau) - \Phi_{dp}(t)$  et  $\Delta \Phi_{np}(t, \tau) = \Phi_{np}(t + \tau) - \Phi_{np}(t)$ . En considérant que les événements de diffusion dans le milieu ainsi que la contribution des deux mécanismes responsables de la variation de phase sont indépendants, et que la modulation est faible,  $G_1$  s'exprime finalement

3. L'effet piézo-optique est l'apparition d'une biréfringence dans un milieu diélectrique soumis à une force extérieure.



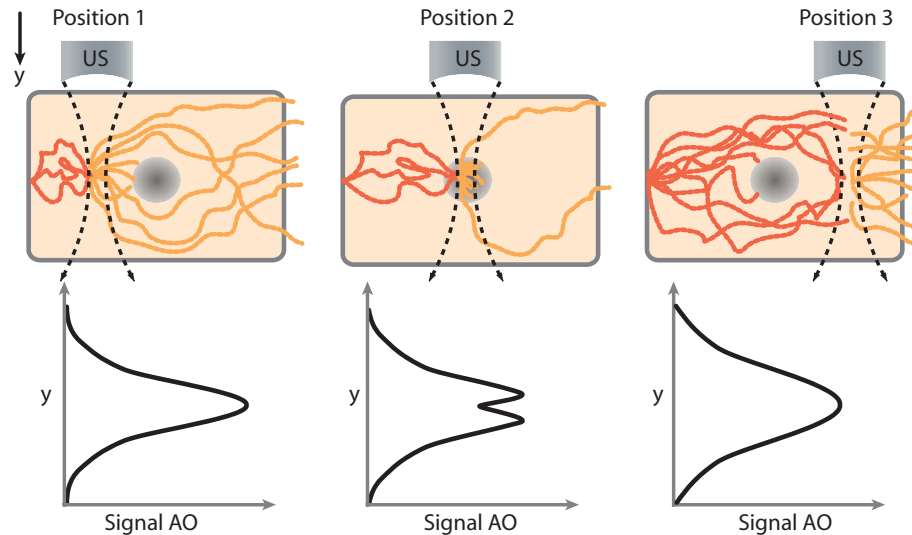
ainsi [54] :

$$G_1(\tau) = \int_0^\infty p(s) \exp \left\{ -\frac{2s}{l_s} (\delta_d + \delta_n) (n_0 k_0 A)^2 [1 - \cos(\omega_{US} \tau)] \right\} ds \quad (1.11)$$

où  $\delta_d$  est une constante qui caractérise l'influence du déplacement des diffuseurs et  $\delta_n$  est une fonction du produit  $k_{US} l_s$  et du coefficient  $\eta$  qui caractérise l'influence de la modulation d'indice.

L'expression 1.11 fait apparaître le terme  $[1 - \cos(\omega_{US} \tau)]$  qui traduit la modulation du speckle à la fréquence ultrasonore. De plus, elle permet de comparer l'importance relative des deux mécanismes impliqués dans la modulation acousto-optique. Les deux contributions sont équivalentes tant que  $k_{US} l_s \leq 0,56$  [54]. Une fois cette valeur dépassée, la contribution dominante est celle de la variation d'indice optique car il s'agit d'un effet intégré sur le chemin parcouru qui devient alors grand devant la longueur d'onde acoustique.

**Détection de contrastes optiques** La dépendance de  $G_1$  à la densité de probabilité  $p(s)$  du chemin parcouru témoigne de l'influence de la répartition des photons dans le milieu sur la modulation du speckle. Cette dépendance est illustrée par le fait qu'une inclusion absorbante présentant le même coefficient de diffusion que le reste du milieu induit une diminution de la modulation acousto-optique. Un contraste d'absorption est donc facilement localisable en repérant une chute du signal acousto-optique.



**Figure 1.10** – Détection d'un contraste d'absorption par imagerie acousto-optique. Quand l'onde acoustique est focalisée en dehors de l'inclusion absorbante (positions 1 et 3 du transducteur), le profil acousto-optique selon l'axe  $y$  renseigne sur l'extension de la tache de diffusion de la lumière. Le profil est plus large en position 3 qu'en position 1 car l'illumination diverge avec la profondeur en raison de la diffusion multiple. Quand l'onde acoustique est focalisée dans l'inclusion (position 2), le profil indique la présence d'un contraste d'absorption par une chute locale du signal.

En revanche, l'impact d'un contraste de diffusion sur la modulation acousto-optique n'est pas aussi évident à prévoir. Kothapalli et al. ont observé une diminution de l'amplitude de la modulation acousto-optique pour des objets plus diffusants que le milieu environnant et inversement, une augmentation de l'amplitude de modulation pour un objet moins diffusant [57]. L'explication théorique proposée est fondée sur un modèle plus complexe que celui présenté au paragraphe précédent, prenant en compte l'interaction entre les deux mécanismes provoquant la variation de phase, appelée anti-corrélation en raison de son signe négatif [56]. Dans une zone présentant un plus fort coefficient de diffusion, la concentration des diffuseurs est plus grande ce qui augmente la modulation induite par le déplacement des diffuseurs. En revanche, le trajet entre deux événements

de diffusion diminue ce qui réduit la modulation induite par la variation de l'indice optique dans un premier temps. Ceci n'est plus vrai quand le coefficient de diffusion devient très grand à cause des fortes corrélations entre les variations de phase induites par les ultrasons le long des différents libres parcours. Enfin, la valeur absolue du terme d'anti-corrélation augmente et l'emporte sur les deux autres termes. Comme il s'agit d'une valeur négative, le résultat final est une baisse de l'amplitude de modulation du speckle.

Afin de localiser l'information provenant du foyer ultrasonore, il faut réussir à détecter les photons marqués, modulés en fréquence, perdus en faible quantité parmi le signal dominant des photons simplement diffusés. La difficulté de la détection vient non seulement de la faiblesse du signal mais aussi de la proximité en longueur d'onde des deux contributions, les photons marqués n'étant qu'à environ  $10^{-5}$  nm des photons simplement diffusés. En outre, le caractère speckle du champ diffusé complique encore la détection puisque sa cohérence spatiale est réduite à un grain de speckle et il est également sujet à une décorrélation temporelle en raison du mouvement brownien des diffuseurs ou d'autres mouvements liés au métabolisme tels que la circulation sanguine ou l'activité musculaire. Dans la suite, nous abordons les différentes stratégies mises en place pour la détection du signal acousto-optique.

### 1.2.2 Détection incohérente

Dans l'exposé des méthodes existantes de détection du signal acousto-optique, nous distinguons les techniques incohérentes qui se fondent sur un filtrage spectral de la lumière diffusée pour sélectionner la composante décalée en fréquence, et les techniques cohérentes qui visent à mesurer la modulation induite par les ultrasons en détectant une modulation d'intensité.

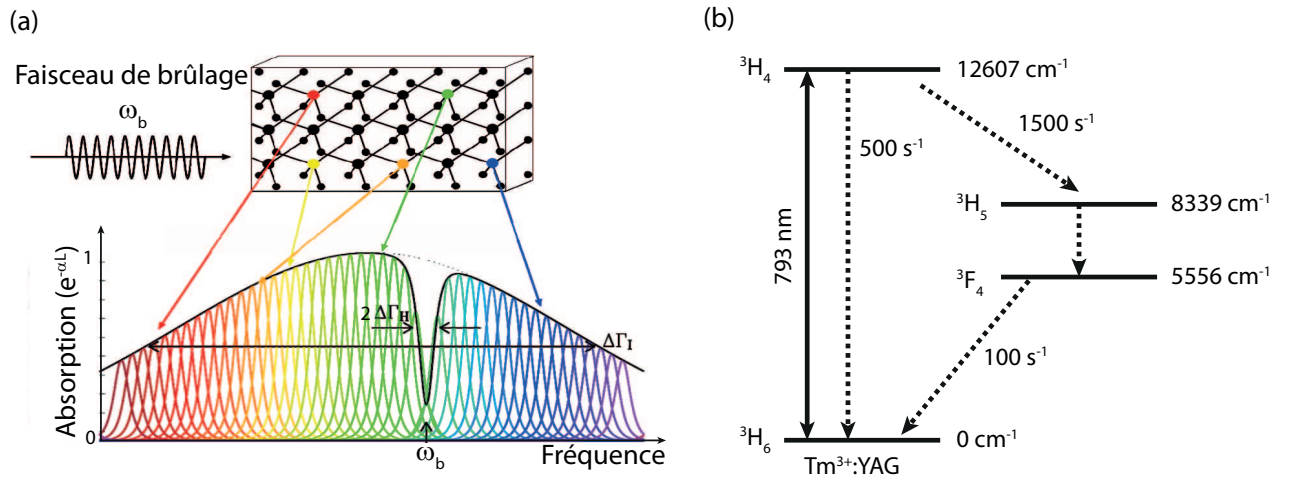
**Interféromètre de Fabry-Perot** Comme beaucoup de systèmes de détection utilisés en imagerie acousto-optique, l'interféromètre de Fabry-Perot est emprunté au domaine du contrôle non destructif de matériaux où il permet de détecter à distance des ondes acoustiques de surfaces [58]. L'interféromètre de Fabry-Perot joue le rôle d'un filtre interférentiel fin dont la fréquence centrale est ajustable en contrôlant la distance entre les deux lames semi-réfléchissantes et dont la résolution dépend de la qualité de ces lames (réflectivité, état de surface). Pour l'application acousto-optique, l'interféromètre est réglé sur la fréquence des photons marqués ( $\omega_L \pm \omega_{US}$ ) et permet d'éliminer la lumière simplement diffusée dans la mesure où la résolution du filtre est suffisante. Un simple détecteur mono-élément, du type photodiode, suffit à collecter le flux des photons marqués. Cette technique de détection a été l'une des premières utilisées dans les débuts de l'acousto-optique [48] mais elle présentait alors une étendue géométrique<sup>4</sup> limitée en raison de l'utilisation de pupilles. Les interféromètres de Fabry-Perot confocaux utilisés plus récemment par Sakadzić et al. [59] ou Rousseau et al. [60] garantissent une meilleure étendue géométrique et leur résolution peut être améliorée en imposant à la lumière plusieurs passages dans l'interféromètre. Rousseau et al. ont ainsi réussi à imager un absorbeur de  $3 \times 3 \times 3$  mm<sup>3</sup> à travers 6 cm de blanc de poulet, avec un taux de rejet de la lumière simplement diffusée atteignant 18 dB [60]. Avec une finesse de Fabry-Perot limitée, il est plus facile de travailler à fréquence ultrasonore plus élevée pour le marquage des photons, ce qui va dans le sens d'une imagerie de plus haute résolution dans des tissus plus fins. Avec une fréquence acoustique de marquage de 75 MHz, Kothapalli et al. ont ainsi réalisé un

---

4. L'étendue géométrique en détection est le produit de la surface d'émission en sortie du système étudié par l'angle solide sous lequel celle-ci est vue par le capteur.

microscope acousto-optique offrant une résolution axiale de  $30\ \mu\text{m}$  et latérale de  $38\ \mu\text{m}$  pour une profondeur d'imagerie de  $2\ \text{mm}$  [61].

**Holeburning spectral** Le creusement spectral, mieux connu sous son nom anglais *spectral holeburning*, constitue une autre méthode de création d'un filtre très sélectif. Il consiste à "creuser un trou" étroit dans le spectre d'absorption de certains matériaux induisant une fenêtre de transparence à la fréquence que l'on souhaite sélectionner. Ce phénomène concerne les matériaux présentant un élargissement inhomogène de la raie d'absorption spectrale. Les cristaux inorganiques dopés par des ions terres rares sont, par exemple, de bons candidats au *holeburning* spectral [62]. L'illumination d'un tel milieu par un rayonnement monochromatique de fréquence  $\omega_b$ , dite fréquence de brûlage, excite sélectivement les centres actifs résonnant à cette fréquence. Ces derniers sont transférés vers le niveau d'énergie supérieur de la transition indépendamment des autres constituants. Comme schématisé sur la figure 1.11, il apparaît alors, dans le profil d'absorption, un trou de largeur  $2\Delta\Gamma_H$ ,  $\Delta\Gamma_H$  étant la largeur de raie d'absorption homogène liée à la transition d'un dopant seul. La largeur de raie d'absorption homogène  $\Delta\Gamma_H$  est supérieure à celle de la raie inhomogène (GHz) à température ambiante mais elle peut être réduite à quelques kHz à basse température ( $\leq 4\ \text{K}$ ). La persistance de cette fenêtre de transparence est permanente (effet photochimique) pour certains matériaux et transitoire (transfert de population) pour d'autres avec une durée de vie qui dépend de la complexité de la structure énergétique. En régime linéaire, la profondeur du trou est proportionnelle à l'énergie du faisceau de brûlage.



**Figure 1.11** – (a) Spectre d'absorption d'un cristal présentant une raie fine de transmission créée par *holeburning* spectral, tiré de [63].  $\omega_b$  est la fréquence de brûlage,  $\Delta\Gamma_I$  la largeur de raie inhomogène et  $\Delta\Gamma_H$  la largeur de raie homogène. (b) Schéma des niveaux atomiques du thulium inséré dans une matrice de YAG. Les flèches en pointillés indiquent les processus de relaxation.

L'utilisation de cette technique de filtrage spectral pour la détection du signal acousto-optique a été proposée par Li et al. [63, 64]. Ils utilisent un cristal de YAG (grenat d'yttrium-aluminium  $\text{Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$ ) dopé à 2% aux ions terres rares thulium  $\text{Tm}^{3+}$ , d'épaisseur  $1,5\ \text{mm}$  et d'environ  $1\ \text{cm}^2$  de surface d'entrée, refroidi à  $4\ \text{K}$ . Avec un faisceau de brûlage envoyant des impulsions de  $3,3\ \text{ms}$  et de  $980\ \text{mW}$  de puissance, la transparence à la fréquence des photons marqués est augmentée de 14 dB. Ils parviennent à imager à  $793\ \text{nm}$  des objets absorbants ayant une taille caractéristique de  $6 - 7\ \text{mm}$  à travers un gel diffusant qui mesure  $1\ \text{cm}$  d'épaisseur et présente un coefficient de diffusion  $\mu'_s = 7\ \text{cm}^{-1}$ . Le temps d'acquisition nécessaire à l'enregistrement d'un profil acousto-optique vaut  $80\ \mu\text{s}$  en réduisant à 4 le nombre de moyennages. Récemment, la même équipe a réussi à imager de petits objets absorbants à travers  $3,2\ \text{cm}$  de blanc de poulet en améliorant



l'efficacité du *holeburning* spectral par double passage du faisceau de brûlage [65]. Cette méthode offre une grande étendue géométrique de détection, seulement limitée par la taille de la fenêtre du cryostat. Il est possible d'imager des échantillons plus en profondeur dans un milieu diffusant en augmentant l'épaisseur du cristal utilisé pour le *holeburning*. Les conditions de basse température requises constituent toutefois une forte contrainte technique. En vue d'améliorer l'efficacité de filtrage, notre équipe collabore avec celle de Jean-Louis Le Gouët du laboratoire Aimé Cotton sur un projet de *holeburning* spectral sur cristal de  $Tm^{3+}$  : YAG soumis à un faible champ magnétique pour subdiviser ses états d'énergie par effet Zeeman et augmenter la durée de vie de la fenêtre de transmission.

Les techniques de détection incohérente du signal acousto-optique présentent l'avantage d'être insensibles aux problèmes relatifs au caractère speckle du champ diffusé car ni la cohérence spatiale ni la cohérence temporelle ne sont mises en jeu.

### 1.2.3 Détection cohérente

**Utilisation d'un mono-détecteur** En ce qui concerne les techniques de détection cohérente visant à mesurer l'amplitude de la modulation acousto-optique, le premier réflexe a été d'utiliser un détecteur mono-élément rapide (photo-multiplicateur ou photodiode) associé à un système de filtrage électronique pour sélectionner la composante modulée [47, 53, 66]. L'avantage de cette détection est sa rapidité qui permet d'envisager des mesures *in vivo* sans se soucier du temps de décorrélation du speckle de l'ordre de la milliseconde. Cependant, le speckle reste un obstacle majeur à cette technique en raison de la faible cohérence spatiale qui n'est pas adaptée à une détection sur une large surface. En effet, l'optimisation du contraste du signal acousto-optique et du rapport signal à bruit passe par un compromis entre le niveau de lumière arrivant sur le détecteur et l'amplitude de modulation du signal. Wang et al. démontrent qu'en détectant  $N_g$  grains de speckle sur un photo-multiplicateur, le degré de modulation est divisé par  $\sqrt{N_g}$ . Dans leur cas,  $10^8$  grains sont enregistrés ce qui réduit l'amplitude de modulation d'un facteur  $10^4$  par rapport à la détection d'un unique grain [66]. L'amplitude du bruit étant également réduite d'un facteur  $\sqrt{N_g}$ , le rapport signal à bruit est finalement identique à celui accompagnant la détection d'un unique grain de speckle.

La recherche de solution au problème de manque de cohérence spatiale du champ en sortie d'un milieu diffusant a suivi deux voies : la détection multiplexée qui a été étudiée sous plusieurs formes et l'adaptation de front d'onde par holographie photoréfractive.

**Détection synchrone multiplexée** La détection multiplexée consiste à mesurer le signal de plusieurs grains de speckle simultanément sur des capteurs indépendants, qui sont généralement les différents pixels d'une caméra. En sommant les signaux détectés en parallèle sur  $N_g$  grains de speckle, le rapport signal à bruit évolue en  $\sqrt{N_g}$  [67]. La vitesse d'acquisition limitée de la caméra introduit cependant une nouvelle difficulté puisque l'enregistrement temporel direct de la modulation acousto-optique n'est plus possible. Pour rendre le signal utile détectable par la caméra, Boccara et al. transposent le procédé de détection synchrone à l'excitation synchrone [67]. Au lieu de faire intervenir un oscillateur local à la fréquence des photons marqués  $\omega_L \pm \omega_{US}$  au niveau du capteur, la modulation à  $\omega_{US}$  est appliquée au faisceau laser ce qui crée un battement basse fréquence détectable par la caméra. Quatre images sont enregistrées pour différentes valeurs de déphasage entre l'excitation ultrasonore et la modulation de la source lumineuse afin de remonter,

par combinaison linéaire de ces images, à l'amplitude et à la phase de la modulation acousto-optique sur chaque pixel. Avec cette méthode, des objets de tailles millimétriques ont été imagés à travers 1 à 2 cm de blanc de poulet d'abord en une dimension [67], puis en deux dimensions [68]. La nécessité d'enregistrer plusieurs images allonge la durée de l'acquisition et détériore le signal si le temps de décorrélation du speckle est dépassé. Cette technique revient finalement à utiliser un oscillateur local qui passe par le milieu diffusant et y subit une atténuation. Il est donc possible d'amplifier le signal en utilisant un oscillateur local indépendant et de réduire ainsi le temps d'intégration nécessaire.

**Holographie hétérodyne hors axe** Pour optimiser la sensibilité de la détection synchrone multiplexée, Gross et al. proposent de diviser le flux lumineux de la source en deux bras avant de traverser l'objet diffusant, afin de disposer d'un oscillateur local qui passe à l'extérieur de l'échantillon et apporte ainsi un gain d'énergie au niveau du détecteur [69]. En outre, un petit angle est introduit entre l'oscillateur local et le faisceau diffusé par l'échantillon ce qui améliore la sélection du signal acousto-optique par filtrage spatio-temporel. Cette technique garantit une sensibilité ultime car elle est théoriquement limitée au bruit de photons. L'holographie hétérodyne hors axe est une des méthodes de détection du signal acousto-optique utilisée pendant la thèse et fait l'objet d'une description plus détaillée dans le chapitre suivant.

**Mesure du contraste de speckle** Dans le but de limiter l'acquisition à une seule image, Li et al. profitent de la détection en parallèle de plusieurs grains de speckle pour analyser les propriétés statistiques de ce dernier, et en particulier son contraste [70]. En effet, tant que la vitesse d'acquisition de la caméra est plus lente que le mouvement induit par les ultrasons sur les diffuseurs, le speckle enregistré par la caméra est flou ce qui se traduit par une perte de contraste. Le contraste d'un speckle est défini comme le rapport de l'écart-type de variation d'intensité en fonction des grains de speckle sur l'intensité moyenne de la figure de speckle entière [71]. Le degré de perte de contraste est lié au nombre de photons marqués par les ultrasons. En raison de leur plus forte absorption, des morceaux de gésier ont été imagés à travers 17 mm de blanc de poulet [70]. Comme pour les autres techniques de détection sans amplification, le principal inconvénient est la faiblesse du signal qui peut être compensée par un temps d'acquisition plus long. Un compromis est nécessaire pour conserver une durée d'acquisition courte devant le temps de décorrélation du speckle.

**Holographie photoréfractive** L'holographie pratiquée avec un cristal photoréfractif permet d'intégrer une multitude de grains de speckle sur un mono-détecteur avec un gain en rapport signal à bruit par rapport à la détection d'un grain unique. Ce résultat est rendu possible par l'adaptation de front d'onde entre un faisceau de référence diffracté sur l'hologramme inscrit dans le cristal et le faisceau objet issu de l'échantillon diffusant. Empruntée au domaine du contrôle non destructif de matériaux, cette technique a été introduite en imagerie acousto-optique par Murray et al. et Ramaz et al. [72, 73]. Les principaux matériaux photoréfractifs utilisés sont le  $Bi_{12}SiO_{20}$  (BSO) à 532 nm, le  $Sn_2P_2S_6$  (SPS) à 780 nm et le GaAs à 1064 nm qui présentent des temps d'établissement de l'hologramme photoréfractif de 5 à 10 ms pour le SPS et de 0,3 à 100 ms pour le BSO et le GaAs. Dans la quête du meilleur temps de réponse, de nouveaux matériaux capables d'enregistrer des hologrammes ont fait leur apparition en imagerie acousto-optique. Ainsi, le cristal de  $Nd : YVO_4$ , qui enregistre un hologramme sous forme de réseau de gain, offre un temps de réponse de 100  $\mu s$  [74]. Le principe de l'holographie photoréfractive est détaillé dans le chapitre 3. En outre, les expériences effectuées au cours de la thèse et présentées aux chapitres 4 et 5 rendent

compte des performances réalisables avec ce système de détection.

En raison de leur insensibilité à la décorrélation du speckle, les techniques de détection incohérente du signal acousto-optique paraissent les plus adaptées à l'imagerie *in vivo*. L'interféromètre de Fabry-Perot manque toutefois de robustesse car sa sélectivité spectrale se dérègle en présence de vibrations. Le filtrage par *holeburning* spectral est la solution de détection idéale même si elle reste encore peu utilisée en laboratoire car il est techniquement difficile d'obtenir des conditions de température suffisamment basses et l'étendue géométrique est souvent réduite par la petite taille des fenêtres de cryostat. Parmi les techniques de détection cohérente, aucune préférence claire n'a été faite au sein de la communauté scientifique spécialisée en acousto-optique. Le choix de la technique dépend beaucoup de l'application visée ainsi que du matériel disponible et du savoir-faire de chaque équipe.

### 1.2.4 Applications et performances actuelles

**Imagerie acousto-optique conventionnelle** Un des premiers objectifs de la recherche actuelle en acousto-optique est d'améliorer sa capacité d'imagerie, en deux ou trois dimensions, en matière de profondeur de la zone imagée, rapidité et rapport signal à bruit. En ce qui concerne la profondeur d'imagerie, l'équipe de L. Wang détient actuellement le record avec des objets de 4 mm de taille caractéristique imagés à deux reprises dans le vert ( $\lambda = 532 \text{ nm}$ ) à travers 9,4 cm de gel diffusant présentant un coefficient de diffusion  $\mu'_s = 10 \text{ cm}^{-1}$  ( $l^* = 1 \text{ mm}$ ) [75, 76]. Dans la première expérience, ils utilisent un faisceau de fibres optiques pour collecter un maximum de lumière diffuse en sortie de l'échantillon et la conduire jusqu'au système de détection par holographie photoréfractive sur cristal de BSO [75]. Pour la seconde expérience, le rapport signal à bruit est amélioré grâce à l'utilisation d'un nouveau matériau photoréfractif de grande surface. Il s'agit d'une couche mince de polymère photoréfractif, de 0,1 mm d'épaisseur, s'étendant sur une surface de  $51 \times 51 \text{ mm}^2$ , ce qui permet de multiplier par 10 l'étendue géométrique de détection par rapport aux autres systèmes [76]. Ce record d'épaisseur traversée nécessite cependant des compromis sur d'autres critères de performance. En effet, dans la première expérience, la résolution le long de l'axe acoustique est mauvaise car des impulsions ultrasonores de 100 cycles (à  $\omega_{US} = 3,5 \text{ MHz}$ ) sont utilisées pour le marquage acousto-optique induisant une résolution de 40 mm. Dans la deuxième expérience, le compromis est fait sur le temps de mesure car le temps de réponse du polymère photoréfractif vaut 20 s.

Les données sur les durées d'acquisition en imagerie acousto-optique sont assez difficiles à recenser. Le temps de 80  $\mu\text{s}$  annoncé par Li et al. pour un profil acousto-optique en détection par *holeburning* spectral [63] me paraît être une bonne performance car cela permettrait de produire des images de 500 lignes concaténées à vitesse réelle (25 images par seconde).

Enfin, plusieurs méthodes sont mises en œuvre pour améliorer la qualité d'image, soit en augmentant la quantité de lumière avec l'utilisation de lasers impulsionnels de puissance par exemple [60, 77], soit en amplifiant la modulation acousto-optique. Cette dernière option a été envisagée de plusieurs manières. Kim et al. ont proposé d'utiliser des impulsions ultrasonores plus intenses, révélant un gain d'un facteur 10 sur l'amplitude du signal acousto-optique en comparaison avec l'utilisation d'une onde acoustique continue [78]. Une autre idée, initiée par Honeysett et al., est d'introduire des micro-bulles d'air au niveau de la zone à imager [79]. L'oscillation de ces bulles sous l'effet de la pression acoustique crée des perturbations supplémentaires de l'indice optique, qui peuvent augmenter l'amplitude de la modulation acousto-optique en fonction de fréquence acoustique et de la fréquence de résonance des bulles. La dernière solution est d'utiliser la

force de radiation acoustique qui induit des déplacements micrométriques dans le milieu diffusant, bien plus grands que les mouvements nanométriques dûs à l'effet acousto-optique. Ce déplacement ne peut pas être perçu instantanément à la mise en fonctionnement des ultrasons car il met quelques millisecondes à s'établir. Li et al. ont constaté une amélioration de 110% du contraste d'un absorbeur en l'imageant en présence de la force de radiation acoustique [80].

**Détection de contrastes mécaniques des tissus** L'utilisation de la force de radiation acoustique a également révélé la possibilité d'imager des contrastes mécaniques (module de cisaillement) par détection du signal acousto-optique [80, 81]. La force de radiation acoustique est engendrée par des changements dans la répartition spatiale d'énergie du champ ultrasonore. Elle naît du transfert d'énergie entre l'onde acoustique et le milieu, responsable de l'atténuation de l'onde, et s'établit dans la direction de l'axe de propagation ultrasonore. Cette force, dont l'amplitude est proportionnelle à l'atténuation acoustique des tissus, est initiée au foyer ultrasonore et se propage ensuite perpendiculairement à l'axe ultrasonore comme une onde de cisaillement. Li et al. ont montré que, pour des gels aux propriétés optiques égales, l'amplitude du signal acousto-optique augmente quand le module de Young de l'échantillon diminue, à condition d'enregistrer l'information sur un temps relativement long (2 ms) pour inclure l'effet de la force de radiation acoustique. De plus, en jouant sur le temps d'acquisition et le déclenchement de l'enregistrement par rapport au coup d'envoi des ondes ultrasonores, il est possible de différencier deux inclusions géométriquement identiques mais présentant respectivement un contraste optique et mécanique par rapport au milieu environnant [80].

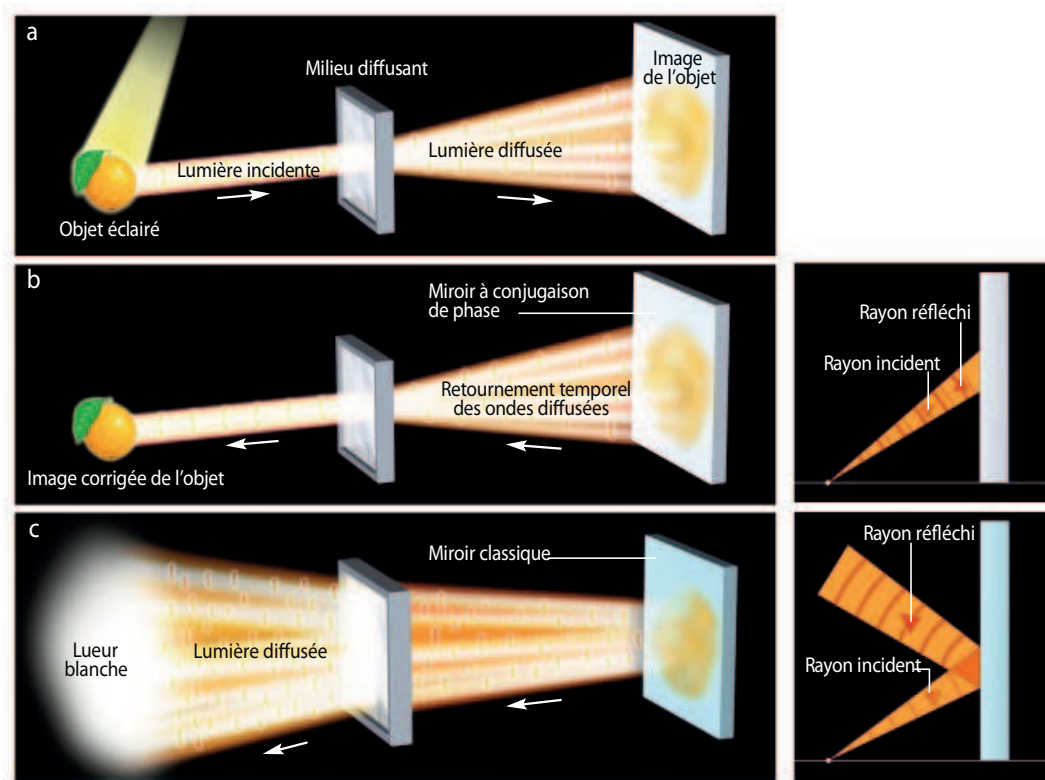
**Mesure des propriétés optiques des tissus** Comme nous le verrons plus en détails dans le chapitre 5, plusieurs études cherchent à tirer des mesures acousto-optiques une information quantitative sur les propriétés optiques des tissus. L'idée est de tendre vers une imagerie fonctionnelle permettant par exemple d'évaluer le taux d'oxygénation du sang. Une unique mesure acousto-optique ne permet pas de connaître la valeur absolue des coefficients d'absorption et de diffusion. Les méthodes développées s'appuient sur une multiplication des longueurs d'onde de mesure [82, 83] ou des pressions acoustiques en jeu pour le marquage acousto-optique [84] pour établir une loi d'évolution des propriétés optiques en fonction du paramètre modifié. Ces méthodes nécessitent une calibration basée sur des mesures de gels diffusants aux propriétés optiques connues et validée par la simulation.

En associant la technique acousto-optique à la tomographie optique diffuse, Bratchenia et al. proposent une méthode de cartographie du coefficient d'absorption sans calibration. Cette méthode a été testée avec succès pour l'imagerie d'un gel diffusant de 2 cm d'épaisseur à  $\mu'_s = 13 \text{ cm}^{-1}$  contenant des objets absorbants de 3 mm de diamètre [29]. En effet, la résolution du problème inverse de la propagation de la lumière diffuse effectuée en tomographie optique diffuse donne une estimation numérique des propriétés optiques des tissus, avec une résolution spatiale qui est, dans ce cas, améliorée par le marquage acousto-optique.

Pour des expériences de simple détection de changement des propriétés optiques et non d'imagerie, la technique acousto-optique permet de gagner en profondeur de mesure avec un système classique du type NIRS. Une comparaison intéressante, menée par Gunadi et al., démontre que la technique acousto-optique offre une meilleure sensibilité au contraste optique dès que la mesure concerne une zone située plus de 14 mm sous la surface des tissus [85].

**Localisation de la fluorescence** Depuis quelques années, le marquage acousto-optique est également utilisé pour localiser la fluorescence dans les tissus [51, 86, 87]. En effet, le rayonnement de

fluorescence, pourtant incohérent, est également modulé. Selon Yuan et al., ce phénomène résulte de trois mécanismes : la modulation de la lumière d'excitation de fluorescence, la modulation de la lumière à l'émission et la modulation des propriétés locales de fluorescence du milieu [87]. Alors que les deux premiers mécanismes sont dominants dans le cas de fluorophores dispersés dans l'eau, dans le cas plus adapté à l'imagerie biomédicale de fluorophores introduits dans un milieu diffusant, le mécanisme prépondérant est la modulation des propriétés de fluorescence. En effet, l'atténuation optique inhérente aux milieux diffusants réduit considérablement l'importance des deux premiers mécanismes alors que le troisième mécanisme est peu affecté par les propriétés optiques du milieu et dépend principalement de l'intensité acoustique. Le faible rapport signal à bruit des mesures n'a pas encore permis de déterminer quelle propriété de fluorescence est touchée par la modulation entre la concentration, le rendement quantique ou le temps de vie.



**Figure 1.12** – Principe de la conjugaison de phase, image tirée de [88]. L'image d'un objet à travers un milieu diffusant est floue (a). Il est possible de reconstruire une image nette de l'objet après un nouveau passage dans le milieu diffusant de l'onde conjuguée, obtenue avec un miroir à conjugaison de phase (b). Une simple réflexion sur un miroir classique n'améliore pas la qualité de l'image (c).

**Focalisation dans les milieux diffusants assistée par acousto-optique** Dans le domaine du contrôle de front d'onde optique, la possibilité de moduler la lumière dans une zone confinée dont la taille est contrôlée par les propriétés acoustiques est un atout pour réussir à focaliser la lumière dans un milieu diffusant. Xu et al. ont développé une technique de focalisation optique fondée sur le retournement temporel de la lumière marquée par une onde acoustique (TRUE : *Time-reversed ultrasonically encoded*), réalisée avec un système de conjugaison de phase optique sur cristal photoréfractif [89]. La conjugaison de phase, dont le principe est schématisé sur la figure 1.12, consiste à inverser la phase d'une onde ce qui revient à inverser le développement spatio-temporel de l'onde. Ainsi, si on considère une onde plane dont le front d'onde a subi des perturbations à la traversée d'un milieu diffusant, il est possible, à l'aide d'un miroir à conjugaison



de phase de créer l'onde conjuguée qui sortira avec un front d'onde plan après s'être propagée en sens inverse dans ce même milieu diffusant. En mélange à quatre ondes, le cristal photoréfractif peut être utilisé comme un miroir à conjugaison de phase [90]. Le marquage acousto-optique permet de créer une source quasi-ponctuelle au sein du milieu qui devient un point de focalisation après enregistrement du signal acousto-optique et contre-propagation du signal conjugué. Avec la technique TRUE, Xu et al. ont réussi à détecter la présence d'inclusions absorbantes et diffusantes enfouies au milieu d'un gel diffusant présentant une épaisseur de 1 cm et un libre parcours moyen de transport  $l^* = 4 \text{ mm}$ , alors que la taille des inclusions vaut 1,5 mm dans l'axe de la ligne d'imagerie. De plus, la comparaison avec l'imagerie acousto-optique standard montre que la méthode TRUE améliore la résolution de 30% [89].

**Applications *in vivo*** La technique acousto-optique a peu été essayée *in vivo* et reste encore majoritairement appliquée sur des gels calibrés imitant les propriétés optiques des tissus ou sur des tissus biologiques relativement homogènes comme le blanc de poulet. Les seules expériences *in vivo* à ma connaissance ont été réalisées par Lev et al. [91, 92]. Dans l'article [91], des mesures acousto-optiques sont faites sur une souris et le bras d'un individu pour évaluer le temps de décorrélation du signal *in vivo*. La seconde expérience vise à évaluer le coefficient de diffusion dans l'avant-bras chez plusieurs patientes dans le but de diagnostiquer l'ostéoporose [92]. Il s'agit de mesures ponctuelles et peu profondes mais elles soulignent le potentiel de la technique acousto-optique pour l'imagerie *in vivo*.

## 1.3 Conclusion

Bien que l'intérêt de l'information optique dans le diagnostic médical ne soit plus à démontrer, les outils cliniques actuels de détection de contrastes optiques restent limités en profondeur d'imagerie ou en résolution. En effet, les techniques de détection des photons balistiques telles que la microscopie ou la tomographie à cohérence optique offrent une excellente résolution, parfois inférieure à la longueur d'onde, mais ne peuvent guère imager plus d'un millimètre sous la surface des tissus. A l'inverse, la technique plus récente de tomographie optique diffuse bénéficie d'une profondeur d'imagerie de plusieurs centimètres avec une résolution qui ne dépasse pas le demi-centimètre. En vue de proposer une localisation à l'échelle du millimètre, voire de la centaines de microns, en profondeur sans perdre le caractère non invasif de l'imagerie par la lumière, de nouvelles méthodes ont été imaginées à partir de l'association des ondes lumineuses et des ondes acoustiques : l'imagerie photo-acoustique et l'imagerie acousto-optique.

Alors que l'imagerie photo-acoustique, basée sur une détection acoustique de l'information optique, a connu récemment une forte émulation conduisant à de nombreux tests *in vivo* et à une exploitation commerciale de la technique, l'imagerie acousto-optique s'est développée moins rapidement probablement en raison d'une plus grande complexité à la fois théorique de l'effet acousto-optique et pratique de la détection optique. Cependant, l'éventail des systèmes de détection du signal acousto-optique existants offre de nombreuses voies d'amélioration de cette technique d'imagerie quant à sa qualité ou sa rapidité et permet de croire en une réalisation prochaine d'essais *in vivo*. Le travail de thèse s'inscrit dans ce cheminement vers l'utilisation clinique de l'imagerie acousto-optique à travers l'amélioration de certains systèmes de détection et l'évaluation des performances de la technique acousto-optique sur des applications *ex vivo* qui mettent en jeu des tissus réels et constituent une étape incontournable entre l'imagerie de gels calibrés et l'imagerie clinique.



---

## Tomographie acousto-optique cohérente par détection holographique hétérodyne hors axe

---

### Table des matières

2.1	Détection des photons marqués par holographie numérique hétérodyne hors axe	<b>26</b>
2.1.1	Principe de l'holographie . . . . .	26
2.1.2	Filtrage temporel . . . . .	28
2.1.3	Filtrage spatial . . . . .	31
2.1.4	Extraction du signal des photons marqués . . . . .	34
2.2	Résolution axiale par modulation de phase aléatoire . . . . .	<b>36</b>
2.2.1	Techniques de résolution axiale existantes . . . . .	36
2.2.2	Principe de la Tomographie Acousto-Optique Cohérente . . . . .	38
2.3	Réalisation expérimentale . . . . .	<b>41</b>
2.3.1	Montage expérimental . . . . .	41
2.3.2	Sensibilité expérimentale de l'holographie hétérodyne hors axe . . . . .	43
2.3.3	Contrôle de la résolution axiale . . . . .	47
2.3.4	Performances d'imagerie en trois dimensions . . . . .	49
2.4	Conclusion . . . . .	<b>50</b>

---



Il existe deux moyens d'améliorer l'imagerie acousto-optique, à savoir augmenter la sensibilité de la détection ou amplifier le signal d'origine avec une source plus puissante, ou un meilleur marquage ultrasonore. Bien qu'aucune comparaison des systèmes de détection évoqués précédemment n'ait été réalisée, l'holographie hétérodyne hors axe semble être la plus sensible puisque Gross et al. ont prouvé qu'elle permettait de détecter des photons marqués à la limite optimale du bruit shot [69]. La Tomographie Acousto-Optique Cohérente (TAOC), initiée par Lesaffre et al. [94] dans notre laboratoire en configuration de détection holographique photoréfractive, produit des images acousto-optiques bien résolues dans les trois dimensions à partir de sources lumineuse et acoustique fonctionnant en quasi-continu. Notre objectif est de coupler la TAOC à la détection par caméra afin d'allier un signal long et fort à une mesure de grande sensibilité.

Ce chapitre décrit dans un premier temps l'holographie numérique hétérodyne hors axe et comment elle permet d'accéder au signal des photons marqués. Ensuite, nous expliquons comment retrouver une bonne résolution dans l'axe de propagation axiale en appliquant une modulation de phase aléatoire aux ultrasons et au faisceau de référence. Nous nous intéressons enfin aux résultats expérimentaux issus du couplage de ces techniques de détection et de résolution axiale et évaluons leur qualité.

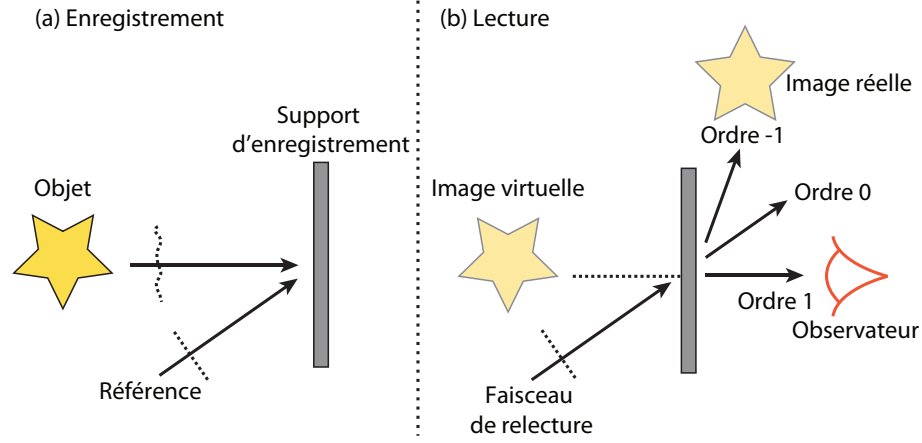
## 2.1 Détection des photons marqués par holographie numérique hétérodyne hors axe

Les premiers profils acousto-optiques d'objets absorbants cachés dans un milieu diffusant ont été mesurés avec des détecteurs uniques [47,53]. Cependant, de tels détecteurs ne sont pas adaptés au caractère speckle du champ optique issu d'un milieu diffusant puisque le signal est moyenné sur plusieurs grains de speckle. Ainsi, en utilisant une caméra comme une matrice de capteurs multiples, détectant un grand nombre de grains de speckle en parallèle ( $\simeq 10^5 - 10^6$ ), Levêque et al. ont considérablement augmenté le rapport signal à bruit [67]. Toutefois, cette technique restait sensible au bruit de décorrélation du speckle. Pour éliminer ce dernier, Gross et al. ont mis en place l'holographie hétérodyne hors axe pour la détection des photons marqués [69]. Dans cette configuration, la source de lumière est divisée en deux faisceaux, le faisceau objet qui va sonder l'échantillon à étudier, et le faisceau de référence qui est contrôlé en fréquence et arrive sur le détecteur avec un petit angle. Un double filtrage, temporel et spatial, est ainsi réalisé. Avant d'évoquer l'holographie numérique et son utilité dans la détection du signal acousto-optique, rappelons le principe de l'holographie.

### 2.1.1 Principe de l'holographie

La façon la plus intuitive d'enregistrer une information optique est de faire une photographie. Cependant, cette action sauvegarde l'intensité optique et non le champ. L'intérêt de l'holographie est d'enregistrer à la fois l'amplitude et la phase d'une onde optique cohérente ayant traversé l'objet étudié. La phase étant liée au temps de parcours de la lumière jusqu'au détecteur, elle

contient des informations sur le relief de l'objet. Cette technique a été découverte par D. Gabor en 1948 et lui a valu le prix Nobel de physique en 1971 [95]. Elle repose sur l'interférence entre l'onde objet et une onde de référence. À l'origine, la figure d'interférence (ou hologramme) est inscrite sur une plaque photographique et l'objet peut être reconstruit en trois dimensions en éclairant à nouveau la plaque par la même référence.



**Figure 2.1** – Principe de l'holographie en deux étapes : (a) l'enregistrement de l'interférogramme, (b) la lecture de l'hologramme par une onde identique à la référence qui a servi à l'enregistrement.

Notons  $E_S$  l'onde objet et  $E_R$  l'onde de référence, d'intensités respectives  $I_S$  et  $I_R$ . L'intensité  $H$  de l'hologramme est donnée par le module carré du champ total complexe et s'écrit :

$$\begin{aligned}
 H(x, y) &= |E_R + E_S(x, y)|^2 \\
 &= |E_R|^2 + |E_S(x, y)|^2 + E_R E_S^*(x, y) + E_R^* E_S(x, y) \\
 &= I_R + I_S(x, y) + E_R E_S^*(x, y) + E_R^* E_S(x, y)
 \end{aligned} \tag{2.1}$$

Une plaque photographique illuminée par  $H(x, y)$  et développée présente une transmission  $t(x, y)$  proportionnelle à  $H$ . Le champ transmis  $U(x, y)$  après relecture de l'hologramme par l'onde de référence vaut :

$$\begin{aligned}
 U(x, y) &= t(x, y) E_R \\
 &= A H(x, y) E_R \\
 &= A [(I_R + I_S(x, y)) E_R + I_R E_S(x, y) + E_R E_R^* E_S^*(x, y)]
 \end{aligned} \tag{2.2}$$

où  $A$  est une constante de proportionnalité. Le premier terme de l'équation 2.2 est appelé ordre zéro de diffraction et correspond aux intensités moyennes transmises dans la direction de propagation de la référence. Le deuxième terme constitue l'image virtuelle, située à l'endroit où se trouvait initialement l'objet (ordre 1). Le dernier terme est l'image réelle car elle se forme du côté de l'observateur (ordre -1).

Lorsque les faisceaux objet et référence sont parallèles, les trois ordres issus de la reconstruction sont superposés. L'idée introduite par Leith et al. pour pouvoir observer ces ordres séparément est de désaxer la référence [96, 97]. Il s'agit de l'holographie hors axe qui permet d'obtenir, à la reconstruction, des images réelle et virtuelle spatialement distinctes comme l'illustre la figure 2.1. Le développement de l'informatique a donné lieu à la reconstruction de l'objet par ordinateur à partir d'hologrammes conventionnels numérisés au début des années 1970. La reconstruction numérique d'hologrammes a été initiée par Yaroslavskii et al. [98] puis améliorée par Onural et

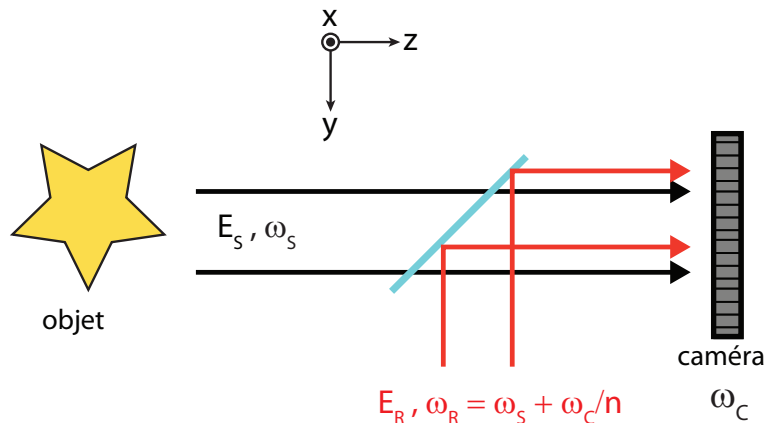
al. [99]. Cette étape a précédé l'apparition de l'holographie entièrement numérique qui inclut également l'enregistrement numérique de l'hologramme sur une matrice de CCD [100] et apporte un gain de temps considérable en éliminant le processus chimique de développement de la plaque photographique.

En détection par caméra, l'holographie hors axe présente l'inconvénient d'utiliser seulement un pixel sur deux car les franges sinusoïdales créées par l'interférence entre l'onde objet et le faisceau de référence nécessitent un échantillonnage sur au moins deux pixels. De plus, la taille de l'objet étudié est limitée car la superposition partielle des ordres doit être évitée. Ayant fait ce constat, Yamaguchi et al. ont proposé une autre méthode de séparation des ordres : l'holographie hétérodyne [101]. Dans une configuration de détection parallèle, plusieurs images sont enregistrées pour des décalages de phase différents entre l'onde objet et l'onde de référence. La combinaison et le traitement de ces images permettent d'isoler l'ordre 1. Initialement réalisé avec un miroir commandé par un actuateur piézoélectrique, le décalage de phase est maintenant généralement contrôlé par un décalage en fréquence de la référence par rapport à l'onde objet, introduit via un modulateur acousto-optique [102]. Ce procédé permet de réduire le bruit de mesure et d'éviter l'apparition d'ordres parasites [103].

L'holographie hors axe permet donc une séparation spatiale des ordres alors que l'holographie hétérodyne réalise une sélection temporelle de l'ordre pertinent. En couplant ces deux techniques dans l'holographie hétérodyne hors axe, Gross et al. ont souhaité améliorer l'efficacité de filtrage [69]. Les ordres 0 et -1 sont filtrés ainsi que le bruit technique de la référence de sorte que la détection est sensible aux plus faibles fluctuations du signal, de l'ordre du bruit de photons. Compte tenu de sa grande sensibilité, l'holographie hétérodyne hors axe apparaît comme une technique adaptée de détection du signal acousto-optique, ce dernier étant très faible en sortie de milieux diffusants épais (quelques nW de puissance lumineuse). La suite de cette section décrit le double filtrage, temporel et spatial, réalisé par l'holographie hétérodyne hors axe dans le cadre de la détection du signal acousto-optique.

### 2.1.2 Filtrage temporel

**Décalage en fréquence de la référence** L'hétérodynage consiste à mélanger le signal à détecter avec un signal de référence (ou oscillateur local) de fréquence proche afin que la fréquence du résultat de ce mélange soit dans la bande passante du détecteur (schéma 2.2).



**Figure 2.2** – Schéma de principe de l'holographie numérique hétérodyne.  $E_{S,R}$  : champs objet et référence,  $\omega_{S,R}$  : fréquences des champs objet et référence,  $\omega_C$  : fréquence caméra.

Dans le cas de l'imagerie acousto-optique, le signal à détecter, à savoir le nombre de photons

marqués, présente déjà un décalage en fréquence par rapport à la source laser d'origine. En effet, les photons marqués constituent les bandes spectrales à  $\omega_L \pm \omega_{US}$  autour de la fréquence  $\omega_L$  du laser. Par conséquent, l'onde de référence à  $\omega_R = \omega_L$  est doublement décalée en fréquence, d'abord de la fréquence des ultrasons puis de la fréquence  $\omega_{mod}$  dite de modulation qui doit être un diviseur de la fréquence d'acquisition de la caméra  $\omega_C$  :

$$\omega_{mod} = \frac{\omega_C}{n} \quad (2.3)$$

où  $n$  est le nombre de phases de modulation. Ce décalage supplémentaire provoque un battement basse fréquence échantillonnable par la caméra. La fréquence de la référence est contrôlée avec précision grâce à des modulateurs acousto-optiques comme nous le verrons dans la description du montage expérimental.

**Enregistrement de l'hologramme** Reprenons les notations du paragraphe 2.1.1 et considérons un champ objet  $E_S$  et un champ référence  $E_R$ , de fréquences respectives  $\omega_S$  et  $\omega_R$ .  $E_S$  se décompose en  $E_D$ , champ des photons simplement diffusés,  $E_{M+}$  et  $E_{M-}$ , champs des photons marqués ayant les fréquences respectives  $\omega_{M+} = \omega_L + \omega_{US}$  et  $\omega_{M-} = \omega_L - \omega_{US}$ . Ces champs sont des variables du temps et de l'espace. L'écriture complexe permet de séparer facilement les deux dépendances. Ainsi, afin d'expliquer le filtrage temporel, nous nous focalisons ici sur la dépendance temporelle des champs :

$$E_S(t) = E_D(t) + E_{M+}(t) + E_{M-}(t) = A_D e^{i\omega_L t} + A_{M+} e^{i\omega_{M+} t} + A_{M-} e^{i\omega_{M-} t} \quad (2.4)$$

$$E_R(t) = A_R e^{i\omega_R t} \quad (2.5)$$

où  $A_D$ ,  $A_{M+}$ ,  $A_{M-}$  et  $A_R$  sont les amplitudes complexes des champs et sont fonctions des coordonnées de l'espace.

Suivre l'évolution du nombre de photons marqués nécessite de choisir la bande spectrale détectée,  $E_{M+}$  ou  $E_{M-}$ , et fixer la fréquence de la référence en fonction. Ici, on décide, par exemple, de détecter le champ  $E_{M+}$  des photons décalés de  $+\omega_{US}$ , en donnant à la fréquence de la référence la valeur suivante :

$$\omega_R = \omega_L + \omega_{US} + \omega_{mod} \quad (2.6)$$

L'image  $I_k$  enregistrée par la caméra à partir de l'instant  $t_k$  nécessite l'intégration de l'intensité de l'hologramme  $H$  (voir équation 2.1) sur le temps d'acquisition  $T_C = \frac{2\pi}{\omega_C}$  et s'écrit :

$$I_k = \int_{t_k}^{t_k+T_C} |E_S(t) + E_R(t)|^2 dt \quad (2.7)$$

$$\begin{aligned} &= \int_{t_k}^{t_k+T_C} [I_D + I_{M+} + I_{M-} + I_R \\ &\quad + A_{M+} A_R^* e^{-i\omega_{mod} t} \\ &\quad + A_{M+}^* A_R e^{i\omega_{mod} t}] dt \end{aligned} \quad (2.8)$$

où  $I_D = |A_D|^2$ ,  $I_{M+} = |A_{M+}|^2$ ,  $I_{M-} = |A_{M-}|^2$  et  $I_R = |A_R|^2$ .

La première ligne de l'équation 2.8 rassemble les termes homodynes alors que les termes suivants, modulés temporellement, constituent la contribution hétérodyne. Le développement rigoureux de l'équation 2.7 ne se limite pas à l'équation 2.8 mais compte également les termes d'interférences croisées :

- entre les photons simplement diffusés et la référence, variant à  $\omega_R - \omega_L \simeq \omega_{US}$ ,
- entre les photons simplement diffusés et les photons marqués, variant à  $\omega_L \pm \omega_{US} - \omega_L = \pm \omega_{US}$
- entre les photons marqués à  $-\omega_{US}$  et la référence, variant à  $\omega_R - \omega_{M-} \simeq 2\omega_{US}$ .

Cependant, ces contributions varient trop rapidement pour être détectées par la caméra car les ultrasons sont typiquement utilisés à une fréquence de l'ordre du MHz. Ainsi, en adaptant la fréquence de la référence à celle des photons marqués et en utilisant la caméra comme un filtre temporel passe-bas, le signal des photons marqués est isolé. Pour accéder à l'amplitude des photons marqués, il est nécessaire de démoduler la partie hétérodyne de l'hologramme.

**Démodulation du signal** Nous procédons à une détection n-phases qui consiste à enregistrer n hologrammes différents pour n valeurs de phase. En pratique, n images consécutives sont enregistrées tous les  $t_k = (k-1) T_C$ , ( $k = 1..n$ ). Avant d'écrire le résultat de la démodulation, simplifions d'abord l'expression 2.8 donnant l'intensité  $I_k$  d'une image en calculant l'intégrale temporelle suivante :

$$\begin{aligned} \int_{t_k}^{t_k+T_C} e^{-i\omega_{mod}t} dt &= \frac{1}{i\omega_{mod}} e^{-i\omega_{mod}t_k} [1 - e^{-i\omega_{mod}T_C}] \\ &= T_C e^{-i\omega_{mod}(t_k+T_C/2)} \text{sinc}(\omega_{mod} T_C/2) \end{aligned} \quad (2.9)$$

où la fonction sinus cardinal *sinc* est définie par :

$$\text{sinc}(t) = \frac{\sin t}{t} \quad (2.10)$$

De plus, comme  $\omega_{mod} (t_k + T_C/2) = (2k-1)\frac{\pi}{n}$  et  $\omega_{mod} \frac{T_C}{2} = \frac{\pi}{n}$ , l'expression 2.9 se simplifie :

$$\int_{t_k}^{t_k+T_C} e^{-i\omega_{mod}t} dt = T_C e^{-i(2k-1)\pi/n} \text{sinc}(\pi/n) \quad (2.11)$$

En injectant ce calcul dans l'équation 2.8, l'intensité  $I_k$  de chaque hologramme pris au temps  $t_k$  vaut :

$$\begin{aligned} I_k = T_C &\left[ I_D + I_{M+} + I_{M-} + I_R \right. \\ &+ A_{M+} A_R^* e^{-i(2k-1)\pi/n} \text{sinc}(\pi/n) \\ &\left. + A_{M+}^* A_R e^{i(2k-1)\pi/n} \text{sinc}(\pi/n) \right] \end{aligned} \quad (2.12)$$

Une démodulation par combinaison linéaire des n images aboutit à l'hologramme complexe d'intensité  $I_H$  :

$$I_H = \sum_{k=1}^n I_k \exp\left(i \frac{2(k-1)\pi}{n}\right) \quad (2.13)$$

En pratique, nous réalisons généralement une démodulation 2 phases ou 4 phases. Pour n=2, l'équation 2.13 devient :

$$\begin{aligned} I_H &= (I_1 - I_2) \\ &= 2 i T_C \text{sinc}(\pi/2) (A_{M+}^* A_R - A_{M+} A_R^*) \end{aligned} \quad (2.14)$$

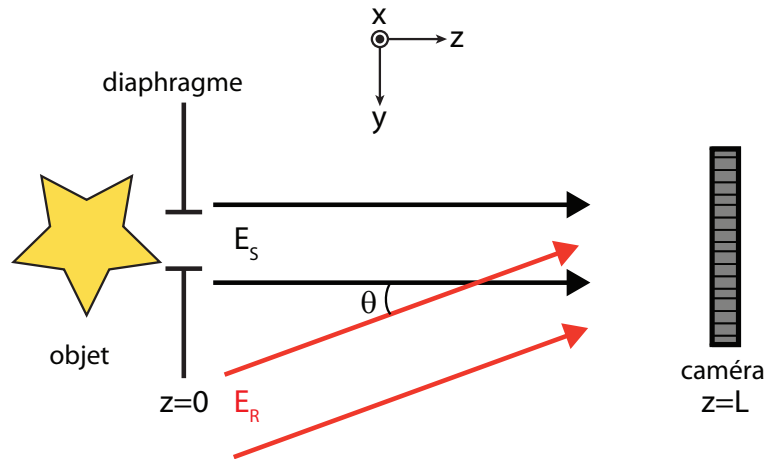
La démodulation 2 phases supprime les termes continus et amplifie le signal utile d'un facteur 1,3 en énergie tandis qu'en démodulation 4 phases, l'ordre -1 est également éliminé puisque l'intensité de l'hologramme complexe s'écrit :

$$\begin{aligned} I_H &= (I_1 - I_3) + i(I_2 - I_4) \\ &= 4 e^{-i\pi/4} T_C \text{sinc}(\pi/4) A_{M+} A_R^* \end{aligned} \quad (2.15)$$

En démodulation 4 phases, l'amplification est plus forte et le filtrage plus efficace ce qui augmente le rapport signal à bruit. Cette démodulation est à privilégier sauf si on mesure des signaux faibles, sujets à une décorrélation temporelle rapide. En effet, en un temps donné, acquérir 4 images au lieu de 2 nécessite de diminuer le temps d'acquisition d'une image et donc le niveau de signal cumulé par image.

### 2.1.3 Filtrage spatial

L'élimination des termes d'intensité moyenne par filtrage temporel peut n'être que partielle si le flux lumineux varie pendant la prise des  $n$  images. La configuration hors axe, développée par Leith et al. [96], permet d'ajouter un filtrage spatial.



**Figure 2.3** – Schéma de principe de l'holographie numérique hétérodyne.  $E_S$  : champ objet,  $E_R$  : champ référence.

Lors de la lecture d'un hologramme construit à partir de faisceaux objet et référence parallèles, les images réelle et virtuelle, ainsi que le faisceau de relecture transmis se superposent. L'holographie hors axe consiste à introduire un angle  $\theta$  entre l'onde objet et l'onde référence de sorte que l'onde associée à l'image réelle et celle associée à l'image virtuelle se propagent avec un angle  $\pm\theta$  par rapport à l'onde de reconstruction. Par conséquent, les interférences entre les faisceaux référence et objet induisent un réseau de franges sinusoïdal. Cette modulation spatiale d'intensité va donner une contribution fréquentielle décalée de l'origine dans l'espace de Fourier. Le signal utile est ainsi facilement séparable du fond continu en réalisant une transformée de Fourier spatiale de l'hologramme enregistré par la caméra.

Le montage classique de l'holographie hors axe est représenté sur la figure 2.3. Reprenons les notations du paragraphe précédent en tenant compte de l'angle  $\theta$  entre les faisceaux référence et objet. En faisant apparaître la dépendance spatiale des champs, l'onde de référence s'écrit :

$$E_R(x, y, z, t) = A_R e^{i(k_{Rx}x + k_{Ry}y + k_{Rz}z)} e^{i\omega_R t} \quad (2.16)$$

où  $k_{Rx} = \frac{2\pi}{\lambda} \sin(\theta) = 2\pi u_{Rx}$ ,  $k_{Ry} = \frac{2\pi}{\lambda} \sin(\zeta) = 2\pi u_{Ry}$ ,  $k_{Rz} = \frac{2\pi}{\lambda} \cos(\theta) = 2\pi u_{Rz}$  sont les projections selon  $x$ ,  $y$  et  $z$  du vecteur d'onde de la référence. En considérant que le faisceau de référence produit un éclairage uniforme,  $A_R$  est une constante.

L'équation 2.12 de l'intensité de l'hologramme enregistré à l'instant  $t_k$  par la caméra devient :

$$\begin{aligned} I_k(x, y, L, t_k) = & T_C \left[ I_D + I_{M+} + I_{M-} + I_R \right. \\ & + A_{M+}(x, y, L) A_R e^{-i(k_{Rx}x + k_{Ry}y + k_{Rz}L)} e^{-i(2k-1)\pi/n} \text{sinc}(\pi/n) \\ & \left. + A_{M+}^*(x, y, L) A_R e^{i(k_{Rx}x + k_{Ry}y + k_{Rz}L)} e^{i(2k-1)\pi/n} \text{sinc}(\pi/n) \right] \end{aligned} \quad (2.17)$$

où  $L$  est la distance entre la caméra et le diaphragme.

Avec un hologramme classique, la séparation spatiale des ordres  $\pm 1$  et du fond continu se fait à la relecture par une onde identique à la référence qui diffracte sur le réseau holographique [104]. Ce phénomène est décrit mathématiquement par l'intégrale de Fresnel-Kirchoff, qui constitue, par conséquent, la base de la reconstruction numérique du champ objet dans un plan de cote  $z$ . Dans l'approximation de Fresnel et à un facteur de phase sphérique près, le champ objet reconstruit s'apparente à la transformée de Fourier inverse en deux dimensions de l'hologramme. Pour l'imagerie acousto-optique, nous n'avons pas besoin de faire une reconstruction exacte, il suffit d'extraire un signal proportionnel à la quantité de photons marqués. Ainsi, pour réaliser la séparation spatiale entre le signal utile et le fond moyen, nous nous contentons d'appliquer une transformée de Fourier en deux dimensions.

Soit  $\tilde{E}$  la transformée de Fourier en deux dimensions du champ  $E$  dans le plan de cote  $z$  telle que :

$$\tilde{E}(u_x, u_y, z) = \int_{\mathbb{R}^2} E(x, y, z) \exp[-2i\pi(u_x x + u_y y)] dx dy \quad (2.18)$$

En appliquant une transformée de Fourier à l'équation 2.17, on obtient l'expression du spectre suivante :

$$\begin{aligned} \tilde{I}_k(u_x, u_y, L) = & T_C \left[ \tilde{I}_D(u_x, u_y, L) + \tilde{I}_{M+}(u_x, u_y, L) + \tilde{I}_{M-}(u_x, u_y, L) + I_R \delta(u_x, u_y) \right. \\ & + e^{-ik_{Rz}L} e^{-i(2k-1)\pi/n} \text{sinc}(\pi/n) A_R \tilde{A}_{M+}(u_x, u_y, L) * \delta(u_x + u_{Rx}, u_y + u_{Ry}) \\ & \left. + e^{ik_{Rz}L} e^{i(2k-1)\pi/n} \text{sinc}(\pi/n) A_R \tilde{A}_{M+}^*(u_x, u_y, L) * \delta(u_x - u_{Rx}, u_y - u_{Ry}) \right] \end{aligned} \quad \begin{array}{l} \text{ordre 0} \\ \text{ordre -1} \\ \text{ordre +1} \end{array} \quad (2.19)$$

où  $*$  et  $\delta$  représentent respectivement le produit de convolution et la fonction de Dirac.

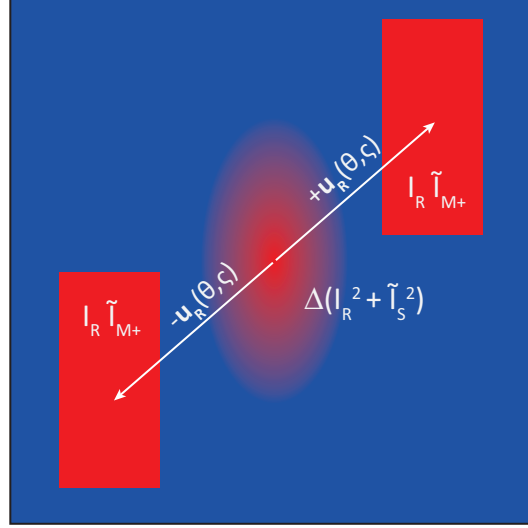
Sur ce spectre, l'ordre 0, contenant les termes d'intensité moyenne, reste au centre alors que le signal pertinent proportionnel à  $\tilde{A}_{M+}$  ou  $\tilde{A}_{M+}^*$  est déporté dans les coins de l'image en fonction de l'angle  $\theta$ . Le filtrage spatial consiste alors à sélectionner une fenêtre réduite de pixels dans le spectre contenant l'ordre  $\pm 1$  ce qui permet d'extraire le signal utile indépendamment du fond continu. Ce filtrage est rendu possible par le confinement des ordres qui est le résultat de l'insertion d'un diaphragme en sortie de l'objet, ce dernier permettant de limiter l'étendue spatiale de la source de photons marqués.



En pratique, nous préférons travailler avec l'intensité des photons marqués et non leur amplitude. Par conséquent, nous calculons la densité spectrale d'énergie  $\Gamma$  plutôt que le spectre, définie par :

$$\Gamma(u_x, u_y) = |\tilde{I}_H(u_x, u_y)|^2 \quad (2.20)$$

où  $I_H$  est l'intensité de l'hologramme après démodulation (cf. équation 2.13).



**Figure 2.4** – Densité spectrale d'énergie  $\Gamma$  schématique pour un diaphragme rectangulaire et une détection deux phases. La distance des ordres au centre dépend de l'angle entre les faisceaux objet et référence. L'élimination du terme d'ordre 0, au centre de l'image, n'est pas parfaite en raison des fluctuations du flux moyen arrivant sur la caméra.

Calculons la densité spectrale d'énergie dans le cas de la démodulation 2 phases, pour laquelle  $I_H$  est définie par l'équation 2.14.

$$\begin{aligned} \Gamma(u_x, u_y) &= \tilde{I}_H(u_x, u_y) \tilde{I}_H^*(u_x, u_y) \\ &= 4 T_C^2 \text{sinc}^2(\pi/2) I_R \left[ \left( \tilde{A}_{M+}(\mathbf{u} + \mathbf{u}_R) e^{-ik_{Rz}L} - \tilde{A}_{M+}^*(\mathbf{u} - \mathbf{u}_R) e^{ik_{Rz}L} \right) \right. \\ &\quad \left. \cdot \left( \tilde{A}_{M+}^*(\mathbf{u} + \mathbf{u}_R) e^{ik_{Rz}L} - \tilde{A}_{M+}(\mathbf{u} - \mathbf{u}_R) e^{-ik_{Rz}L} \right) \right] \\ &= 4 T_C^2 \text{sinc}^2(\pi/2) I_R \left[ \tilde{A}_{M+}(\mathbf{u} + \mathbf{u}_R) \tilde{A}_{M+}^*(\mathbf{u} + \mathbf{u}_R) + \tilde{A}_{M+}^*(\mathbf{u} - \mathbf{u}_R) \tilde{A}_{M+}(\mathbf{u} - \mathbf{u}_R) \right. \\ &\quad \left. + \tilde{A}_{M+}(\mathbf{u} + \mathbf{u}_R) \tilde{A}_{M+}(\mathbf{u} - \mathbf{u}_R) e^{-2ik_{Rz}L} + \tilde{A}_{M+}^*(\mathbf{u} - \mathbf{u}_R) \tilde{A}_{M+}^*(\mathbf{u} + \mathbf{u}_R) e^{2ik_{Rz}L} \right] \end{aligned} \quad (2.21)$$

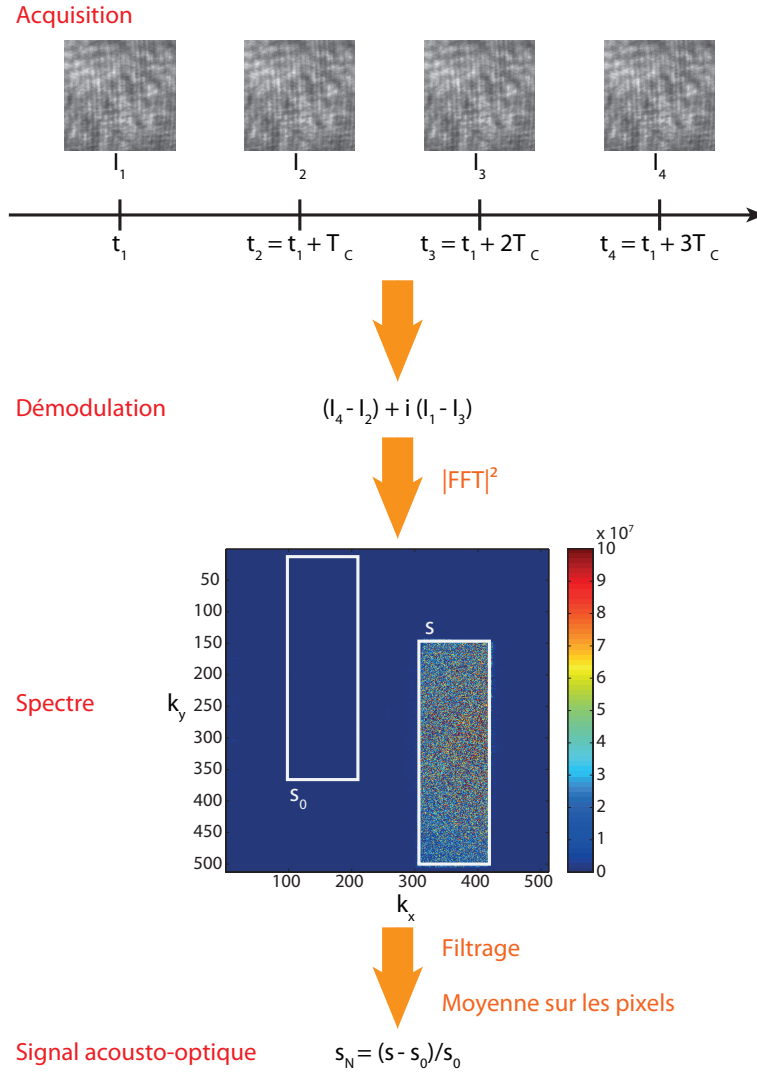
où  $\mathbf{u} \pm \mathbf{u}_R = (u_x \pm u_{Rx}, u_y \pm u_{Ry})$ . Un choix réfléchi de la taille du diaphragme et de l'angle  $\theta$  permet d'éviter le recouvrement des ordres (voir annexe A). L'expression 2.21 se simplifie alors en :

$$\begin{aligned} \Gamma(u_x, u_y) &= 4 T_C^2 \text{sinc}^2(\pi/2) I_R \left[ \tilde{I}_{M+}(\mathbf{u} + \mathbf{u}_R) + \tilde{I}_{M+}(\mathbf{u} - \mathbf{u}_R) \right] \\ &= 4 \text{sinc}^2(\pi/2) (T_C I_R) \left[ T_C \tilde{I}_{M+}(\mathbf{u} + \mathbf{u}_R) + T_C \tilde{I}_{M+}(\mathbf{u} - \mathbf{u}_R) \right] \end{aligned} \quad (2.22)$$

Comme on peut le voir sur la figure 2.4, l'énergie est donc distribuée sur deux composantes spectrales, proportionnelles à l'énergie des photons marqués accumulée sur un temps  $T_C$  d'un facteur  $4 \text{sinc}^2(\pi/2) T_C I_R \simeq 1,6 \mathcal{E}_R$ , où  $\mathcal{E}_R$  est l'énergie de la référence sur un temps  $T_C$ . Une détection 4 phases aurait concentré toute l'énergie sur un seul ordre, avec un facteur d'amplification d'environ  $13 \mathcal{E}_R$ .

### 2.1.4 Extraction du signal des photons marqués

Le processus d'extraction du signal acousto-optique à partir de l'acquisition de 4 images (en détection 4 phases) est synthétisé sur la figure 2.5.



**Figure 2.5** – Étapes du traitement numérique entre l'acquisition des images et l'extraction du signal acousto-optique.

**Signal acousto-optique normalisé** Pour réaliser un profil transverse acousto-optique, à chaque position du transducteur ultrasonore, nous acquérons deux images (ou quatre en détection 4 phases) et nous calculons la densité spectrale d'énergie. Le signal  $s$  est extrait en moyennant les pixels de l'ordre  $\pm 1$ . Nous représentons généralement le signal normalisé  $s_N$  défini par :

$$s_N = \frac{s - s_0}{s_0} \quad (2.23)$$

où  $s_0$  est le niveau de bruit.  $s_0$  est calculé en moyennant les pixels d'une zone extérieure aux ordres  $\pm 1$  de taille semblable à celle d'un ordre.

**Énergie des photons marqués** Pour avoir une idée des énergies détectées en imagerie acousto-optique et comparer, par exemple, deux images réalisées avec deux techniques de détection différentes, il est important de pouvoir remonter à l'énergie des photons marqués à partir du signal enregistré par la caméra. Ce dernier étant enregistré en niveaux de gris (ndg), nous devons connaître le taux de conversion ndg-photons  $\alpha_{ndg-photons}$  de la caméra pour accéder à la puissance en Watts. La caractérisation de la caméra *Photron FastCam SA4* que nous utilisons est détaillée en annexe B.

Sur la densité spectrale d'énergie, en niveaux de gris au carré, le niveau utile  $s_{u,ndg^2} = s - s_0$  d'un ordre vaut  $s_{u,ndg^2} = c_{dem} \mathcal{E}_{R,ndg} \mathcal{E}_{M+,ndg}$ , où  $c_{dem} = \{1, 6; 13\}$  en fonction du type de démodulation 2 phases ou 4 phases et  $\mathcal{E}$  représente l'énergie accumulée sur le temps  $T_C$ . L'indice *ndg* précise que les énergies de la référence et des photons marqués sont exprimées en niveaux de gris. Ainsi, en divisant ce niveau par  $c_{dem} \mathcal{E}_{R,ndg}$ , on obtient directement l'énergie des photons marqués  $\mathcal{E}_{M+,ndg}$ . En situation de faibles signaux, c'est-à-dire avec  $I_{M+} \ll I_R$ , l'énergie totale reçue par la caméra  $\mathcal{E}_{tot}$  peut être assimilée à l'énergie de la référence  $\mathcal{E}_{R,ndg}$ . L'énergie de la référence est donc estimée en calculant l'intensité moyenne d'une image enregistrée. D'après l'égalité de Parseval, l'énergie est conservée entre le domaine réel et le domaine de Fourier. Numériquement, on réalise une Transformée de Fourier Rapide (FFT) à la place de la Transformée de Fourier. Dans ce cas, l'égalité de Parseval reste valable à condition de normaliser l'énergie totale dans le domaine de Fourier par le nombre de pixels sur lequel est réalisée la FFT.

Soit  $\mathcal{E}_{0,ndg}$  l'intensité moyennée sur les pixels de la première image enregistrée pour l'acquisition d'un point de signal acousto-optique en niveaux de gris. L'énergie par pixel des photons marqués en niveaux de gris  $\mathcal{E}_{M+,ndg}$  se calcule alors par :

$$\mathcal{E}_{M+,ndg} = \frac{s_{u,ndg^2}}{c_{dem} \mathcal{E}_{0,ndg} N_{x,ordre} N_{y,ordre}} \quad (2.24)$$

où  $N_{x,ordre} \times N_{y,ordre}$  est la taille de l'ordre en pixels.

Pour parvenir à la puissance moyenne des photons marqués  $P_{M+}$  en Watts reçue par pixel de la caméra, il faut réaliser l'opération suivante :

$$P_{M+} = \mathcal{E}_{M+,ndg} \alpha_{ndg-photons} \frac{h_P c}{\lambda} f_C \quad (2.25)$$

où  $h_P$  est la constante de Planck ( $h_P \simeq 6,63.10^{-34} \text{ J.s}$ ),  $c$  est la vitesse de la lumière ( $c = 3.10^8 \text{ m.s}^{-1}$ ) et  $f_C = \frac{\omega_C}{2\pi}$  est la fréquence d'acquisition de la caméra. Enfin, la puissance totale des photons marqués arrivant sur la caméra  $P_{M+,tot}$  s'obtient en multipliant  $P_{M+}$  par la taille de l'image en nombre de pixels.

$$P_{M+,tot} = P_{M+} N_x N_y \quad (2.26)$$

Nous avons vérifié expérimentalement ce calcul en réalisant une détection numérique hétérodyne hors axe de l'hologramme du faisceau de référence et du faisceau signal, sans insérer d'objet diffusant. Nous avons mesuré la puissance des deux faisceaux indépendamment  $P_{R,mes}$ ,  $P_{S,mes}$ , et la puissance totale  $P_{tot,mes}$  au puissance-mètre (*Gentec-ε*, avec photo-détecteur silicium *PH100-Si*), pour les comparer aux valeurs expérimentales  $P_{tot,exp}$  et  $P_{S,exp}$  calculées à partir des images en utilisant les équations 2.24, 2.25 et 2.26. Le tableau suivant compile les résultats obtenus pour plusieurs réalisations de l'expérience.

Expérience	$P_{R,mes}$	$P_{S,mes}$	$P_{tot,mes}$	$P_{tot,exp}$	$P_{S,exp}$
n°1 - 4 phases	$7 \mu W$	$0,1 \mu W$	$7,1 \mu W$	$7,8 \mu W$	$0,14 \pm 0,05 \mu W$
n°2 - 4 phases	$7,15 \mu W$	$0,55 \mu W$	$7,7 \mu W$	$8,1 \mu W$	$0,5 \pm 0,1 \mu W$
n°3 - 2 phases	$7,15 \mu W$	$0,55 \mu W$	$7,7 \mu W$	$7,8 \mu W$	$0,5 \pm 0,1 \mu W$

Bien que ces mesures soient peu précises (entre 20% et 40% de précision sur  $P_{S,exp}$ ), elles prouvent que le calcul présenté précédemment permet de retrouver l'ordre de grandeur de la puissance des photons marqués. Le manque de précision de cette expérience vient principalement de l'inhomogénéité spatiale des faisceaux qui induit non seulement un manque d'uniformité de la référence sur la matrice de pixels mais aussi une forme d'ordre mal définie. Ainsi, la valeur mesurée  $P_{S,exp}$  varie fortement avec la zone de délimitation choisie pour le signal  $s$ . Dans une expérience avec gel diffusant, la répartition spatiale d'énergie est homogénéisée à la traversée de l'échantillon par diffusion et un filtrage spatial du flux sortant est réalisé avec un diaphragme, ce qui garantit une meilleure définition des ordres sur le spectre.

## 2.2 Résolution axiale par modulation de phase aléatoire

La technique d'extraction du signal abordée dans la section précédente doit être répétée pour chaque nouvelle zone de marquage acousto-optique afin de cartographier les propriétés optiques locales d'un milieu diffusant. En raison de la forme focalisée de l'onde acoustique, la zone de marquage est confinée sur 1 à 2 mm transversalement à l'axe de propagation des ultrasons. En revanche, l'effet acousto-optique est environ dix fois moins localisé dans la direction de propagation ultrasonore. Il est donc nécessaire de trouver une stratégie pour améliorer la résolution axiale (le long de l'axe de propagation des ultrasons) et proposer une technique d'imagerie résolue au millimètre dans les trois dimensions. Compte tenu de la difficulté à confiner la lumière dans un milieu multiplement diffusant, il paraît naturel de manipuler et transformer l'onde ultrasonore pour améliorer la résolution axiale.

### 2.2.1 Techniques de résolution axiale existantes

Utiliser les ultrasons en régime impulsionnel est une manière assez intuitive de gagner en résolution axiale puisque la taille de la zone de marquage est directement proportionnelle à la longueur de l'impulsion acoustique. Néanmoins il est également possible de réduire la zone de marquage avec des ultrasons continus en s'aidant de modulations de phase ou d'amplitude.

**Second harmonique acousto-optique** Selb et al. ont constaté que détecter les photons marqués par le second harmonique ultrasonore, à  $\omega_L \pm 2\omega_{US}$ , permettait de multiplier par 2 le contraste d'un petit absorbeur enfoui dans un milieu diffusant épais ce qui témoigne de l'amélioration de la résolution axiale [105]. En effet, la non-linéarité acoustique nécessite une plus forte pression et limite davantage la zone de marquage autour du foyer ultrasonore. D'après [105], la dimension axiale de la zone de marquage est divisée par 1.5 par rapport au marquage linéaire. Cependant, le signal à  $\omega_L \pm 2\omega_{US}$  est faible et requiert une forte puissance acoustique, incompatible avec les normes médicales d'exposition aux ultrasons.

**Méthode du chirp** Cette méthode, imaginée par Yao et al. [68] en détection parallèle de speckle, repose sur une modulation linéaire de la fréquence des ultrasons et de la fréquence du laser. Un retard est imposé entre les deux modulations de fréquence correspondant au temps de

propagation de l'onde acoustique entre le transducteur et la zone à imager dans le milieu diffusant. Il s'agit dans ce cas d'une imagerie point par point puisqu'il faut modifier le retard pour cibler une zone différente. Forget et al. ont augmenté la rapidité de la technique en réalisant un film du champ objet [106]. Chaque pixel enregistre l'évolution temporelle d'un grain de speckle qui est ensuite transposée dans le domaine fréquentiel par une transformée de Fourier. Comme chaque fréquence instantanée correspond à une position donnée sur l'axe de propagation des ultrasons, un film donne directement un profil acousto-optique axial entier. Cependant, cette technique reste gourmande en temps d'acquisition. Avec une caméra rapide utilisée à 1.4 kHz, Atlan et al. sont parvenus à mesurer un profil axial acousto-optique moyenné 100 fois en 70 ms [107]. Ce temps de mesure reste encore incompatible avec le temps de décorrélation du speckle *in vivo* et le temps maximal d'exposition aux ultrasons qui sont tous deux de l'ordre de la milliseconde. Toutefois, avec l'amélioration des caméras et de leur cadence, la méthode *chirp* est à garder en considération.

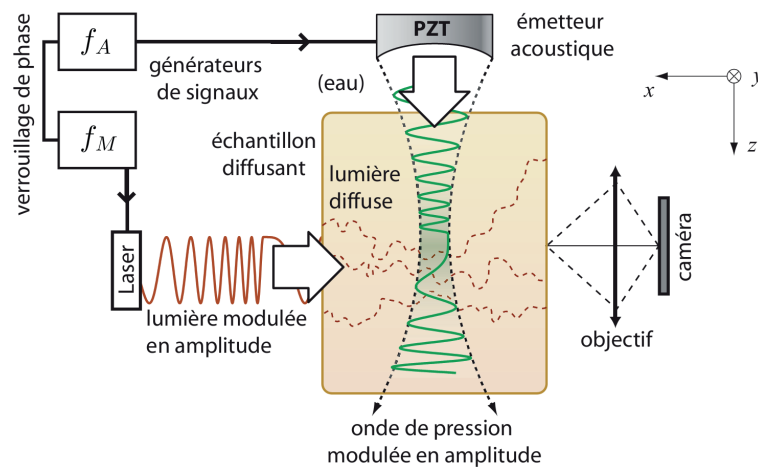


Figure 2.6 – Configuration expérimentale de la méthode *chirp*, schéma tiré de [107].

**Régime impulsif** Dans l'idée de mettre au point un appareil d'imagerie bimodale fusionnant échographie standard et imagerie acousto-optique, Lev et al. ont proposé d'effectuer le marquage acousto-optique avec les impulsions ultrasonores de courte durée traditionnellement utilisées en échographie [93]. La résolution axiale découle directement de l'étendue temporelle de l'impulsion. La détection directe par un capteur mono-élément [93] ou après holographie photoréfractive [72] tire profit de sa grande bande passante pour imager d'un coup une ligne de l'objet parcourue par l'impulsion ultrasonore. La technique impulsifnelle a également été transposée à une détection par holographie numérique hors axe par Atlan et al. [108]. En raison de sa bande passante réduite, la caméra ne peut pas suivre la propagation de l'impulsion ultrasonore dans le milieu. Une imagerie point par point est donc réalisée avec une illumination et une insonification "stroboscopiques". Comme l'onde acoustique, l'onde de référence prend la forme d'une impulsion courte déclenchée en retard par rapport aux ultrasons pour compenser le temps de propagation des ultrasons jusqu'à la zone cible. Les impulsions présentent l'avantage d'être compatibles avec les normes médicales acoustiques. Cependant, pour avoir une résolution de l'ordre du millimètre, la durée de l'impulsion reste loin de la limite préconisée d'exposition de 1 ms et la puissance du signal n'est donc pas optimisée.

**Modulation de phase aléatoire** Développée par Lesaffre et al. dans notre laboratoire, cette méthode nécessite d'appliquer la même modulation de phase aléatoire à l'onde de référence op-

tique et à l'onde acoustique avec un retard entre les deux, lié, comme précédemment, au temps de propagation des ultrasons entre le transducteur et la zone cible [94]. Couplée à une détection interférométrique, elle permet de réduire la longueur de cohérence optique de l'onde objet et de l'onde de référence pour retrouver une bonne résolution axiale. Cette technique, appelée Tomographie Acousto-Optique Cohérente (TAOC), a d'abord été mise en œuvre avec une détection par holographie photoréfractive à 1064 nm dans un cristal de GaAs. Puis, dans le cadre de la thèse, elle a été appliquée à la détection par holographie hétérodyne hors axe [109] à 780 nm dans le but de cumuler les avantages d'un signal quasi-continu et d'une détection de grande sensibilité dans la fenêtre thérapeutique optique. La section suivante donne une explication plus détaillée de la TAOC.

## 2.2.2 Principe de la Tomographie Acousto-Optique Cohérente

Le but est de réduire la cohérence optique des ondes objet et référence en leur imposant une variation rapide. Pour ce faire, on applique aux signaux optiques une même modulation de phase aléatoire  $\Phi(t)$  qui varie sur un temps caractéristique court  $\Delta t$ . La référence est directement modulée par les modulateurs acousto-optiques tandis que l'onde objet reçoit cette modulation par l'intermédiaire du marquage acoustique. La deuxième modulation de phase est donc appliquée à l'excitation ultrasonore. L'onde de référence est retardée de  $\tau$  par rapport à l'onde ultrasonore afin de mesurer le signal provenant d'une zone cible située en  $y_0 = \tau v_{US}$  sous le transducteur.  $v_{US}$  est la vitesse des ultrasons et vaut environ  $1500 \text{ m.s}^{-1}$  dans les milieux étudiés, essentiellement constitués d'eau.

On peut réécrire les champs objet et référence à partir des équations 2.4 et 2.5 :

$$E_S(t) = A_D e^{i\omega_L t} + A_{M+} e^{i\omega_{M+} t} \int_{y=0}^h e^{i\Phi(t-y/v_{US})} dy + A_{M-} e^{i\omega_{M-} t} \int_{y=0}^h e^{-i\Phi(t-y/v_{US})} dy \quad (2.27)$$

$$E_R(t) = A_R e^{i\omega_R t} e^{i\Phi(t-\tau)} \quad (2.28)$$

L'intégrale sur les positions axiales  $\int_y$  permet de sommer la contribution de chaque diffuseur au déphasage global et indique que des photons marqués sont créés dans toute la colonne acoustique.  $h$  est la taille de l'échantillon dans l'axe des ultrasons. Une expression plus détaillée du champ des photons marqués faisant apparaître la sommation discrète de la contribution des diffuseurs dans le milieu est disponible dans l'article de Lesaffre et al. [110].

Supposons que la fréquence de la référence soit ajustée pour sélectionner les photons à  $\omega_L + \omega_{US}$ . L'équation 2.8 donnant l'intensité de l'hologramme  $I_k$  enregistrée sur un temps  $T_C$  à partir de l'instant  $t_k$  devient :

$$\begin{aligned} I_k = & T_C (I_D + I_{M+} + I_{M-} + I_R) \\ & + A_{M+} A_R^* \int_{t=t_k}^{t=t_k+T_C} \int_{y=0}^h e^{i\Phi(t-y/v_{US})} e^{-i\Phi(t-\tau)} e^{-i\omega_{mod} t} dy dt \\ & + A_{M+}^* A_R \int_{t=t_k}^{t=t_k+T_C} \int_{y=0}^h e^{-i\Phi(t-y/v_{US})} e^{i\Phi(t-\tau)} e^{i\omega_{mod} t} dy dt \end{aligned} \quad (2.29)$$

Avec l'introduction de la modulation de phase aléatoire, le champ des photons marqués varie sur un temps caractéristique  $\Delta t \ll T_C$ . Enregistrer l'hologramme sur la caméra revient à moyenner l'expression 2.29 sur le temps d'acquisition  $T_C$ . Définissons donc l'opérateur de moyenne temporelle  $\langle \rangle_{T_C}$  :

$$\langle \dots \rangle_{T_C} \equiv \frac{1}{T_C} \int_{t'=0}^{t'=T_C} (\dots) dt' \quad (2.30)$$

L'équation 2.29 s'écrit alors :

$$\begin{aligned} I_k = T_C [ & I_D + I_{M+} + I_{M-} + I_R \\ & + A_{M+} A_R^* e^{-i(2k-1)\pi/n} \text{sinc}(\pi/n) \int_{y=0}^h \langle e^{i\Phi(t-y/v_{US})} e^{-i\Phi(t-\tau)} \rangle_{T_C} dy \\ & + A_{M+}^* A_R e^{i(2k-1)\pi/n} \text{sinc}(\pi/n) \int_{y=0}^h \langle e^{-i\Phi(t-y/v_{US})} e^{i\Phi(t-\tau)} \rangle_{T_C} dy ] \end{aligned} \quad (2.31)$$

Pour reprendre le formalisme de Lesaffre et al. [110] sur la TAOC en détection holographique photoréfractive, le signal acousto-optique dépend de  $g_1(\tau)$  qui est la fonction d'autocorrélation de la modulation de phase aléatoire :

$$g_1(\tau) = \langle e^{i\Phi(t-y/v_{US})} e^{-i\Phi(t-\tau)} \rangle_{T_C}$$

Si on effectue les changements de variable  $t' = t - \frac{y}{v_{US}}$  et  $u = \tau - \frac{y}{v_{US}}$ ,  $g_1$  s'écrit aussi :

$$g_1(u) = \langle e^{i\Phi(t')} e^{-i\Phi(t'-u)} \rangle_{T_C} \quad (2.32)$$

La modulation de phase que nous utilisons prend aléatoirement la valeur 0 ou  $\pi$  sur chaque période  $\Delta t$ . Elle est constituée de  $N_b$  bascules.

$$\begin{aligned} \Phi(t) &= \sum_{k=0}^{N_b-1} a_k \text{rect} \left( \frac{t - \Delta t/2 - k\Delta t}{\Delta t} \right) \\ &= \text{rect} \left( \frac{t - \Delta t/2}{\Delta t} \right) * \sum_{k=0}^{N_b-1} a_k \delta(t - k\Delta t) \end{aligned} \quad (2.33)$$

où  $a_k = \{0; \pi\}$  et  $\text{rect}$  est la fonction porte définie par :

$$\text{rect}(t) = \begin{cases} 1 & \text{si } -\frac{1}{2} \leq t \leq \frac{1}{2} \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \quad (2.34)$$

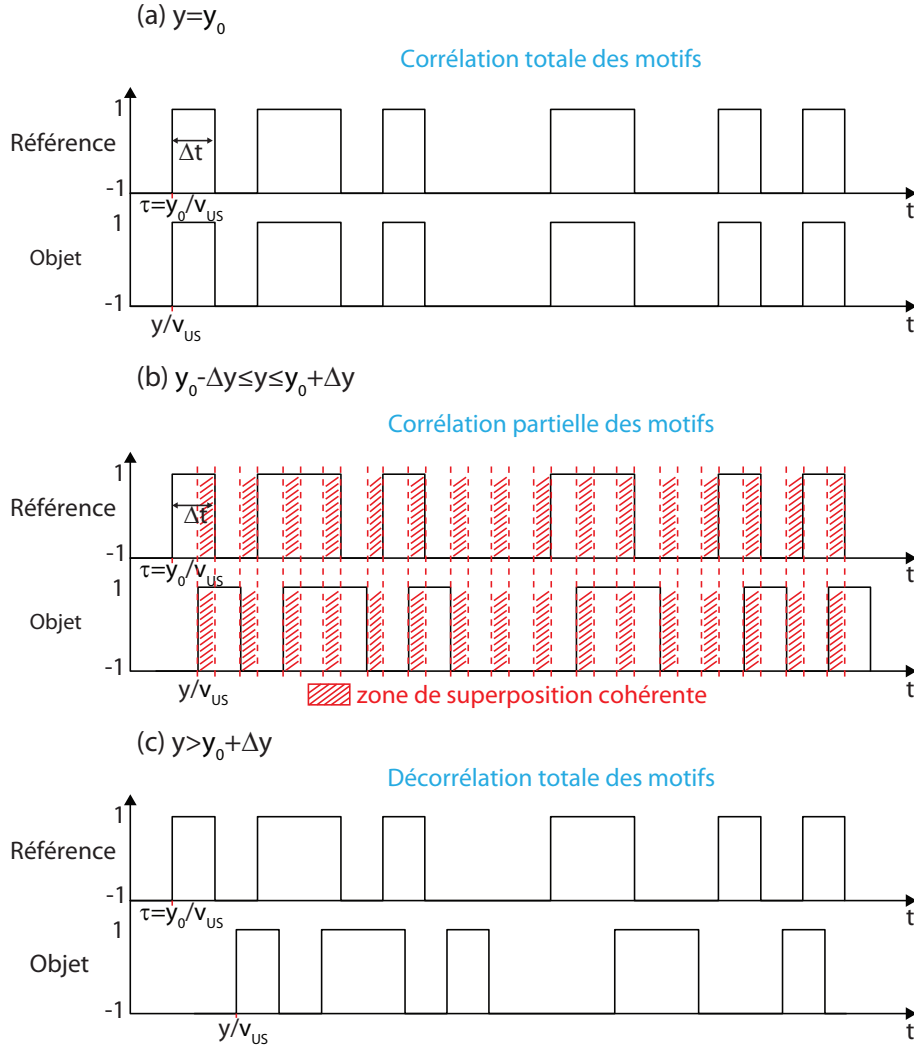
Par conséquent, dans l'équation 2.32, les termes sous l'intégrale valent 1 ou -1 ce qui permet de simplifier l'expression de  $g_1$  :

$$g_1(u) = \left\langle \sum_{k=0}^{N_b-1} b_k \text{rect} \left( \frac{t' - \Delta t/2 - k\Delta t}{\Delta t} \right) \sum_{p=0}^{N_b-1} b_p \text{rect} \left( \frac{t' - \Delta t/2 - p\Delta t - u}{\Delta t} \right) \right\rangle_{T_C} \quad (2.35)$$

où  $b_{k,p} = \{-1; 1\}$ .



Regardons comment se comporte  $g_1(u)$  en fonction de la position le long de la colonne ultrasonore.



**Figure 2.7** – Superposition des motifs aléatoires en fonction de la position dans la colonne acoustique, représentation pour  $u = \tau - y/v_{US} \leq 0$ .

- En  $y = y_0 = v_{US}\tau$ , les deux motifs de phase se superposent exactement (cf. figure 2.7(a)), ce qui donne :

$$g_1(0) = \sum_{k=0}^{N_b-1} b_k^2 \Delta t = N_b \Delta t \quad (2.36)$$

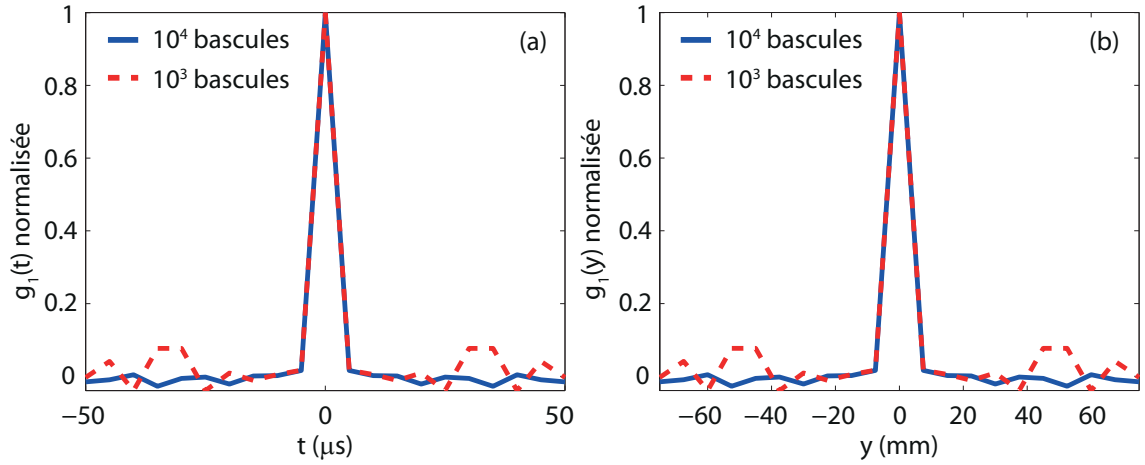
- En  $y_0 - \Delta y \leq y \leq y_0 + \Delta y$ , où  $\Delta y = v_{US} \Delta t$ ,  $g_1$  se décompose en deux parties : un terme correspondant au recouvrement partiel des deux motifs et un terme correspondant aux zones non corrélées, comme schématisé sur la figure 2.7(b). On écrit alors :

$$\begin{aligned} g_1(u) &= \sum_{k=0}^{N_b-1} b_k^2 (\Delta t - |u|) + |u| \sum_{k=0}^{N_b-1} \sum_{p=k}^{N_b-1} b_k b_p \\ &= N_b (\Delta t - |u|) + |u| \sum_{k=0}^{N_b-1} \sum_{p=k}^{N_b-1} b_k b_p \end{aligned} \quad (2.37)$$

Le deuxième terme de l'équation 2.37 est une somme aléatoire équiprobable de 1 et de -1, ce qui constitue une loi binomiale de moyenne nulle et de variance  $N_b$ . Il s'agit d'un terme de fluctuations, qui présente un écart-type de  $\sqrt{N_b}$ .

- En  $y < y_0 - \Delta y$  ou  $y > y_0 + \Delta y$ , les deux motifs à bascule aléatoire de phase sont complètement décorrélés (schéma 2.7(c)). Le signal est alors uniquement constitué de fluctuations centrées sur 0, d'écart-type  $\sqrt{N_b}$ .

Finalement, la fonction  $g_1$ , représentée sur la figure 2.8, est une fonction triangle de largeur  $2\Delta t$  à sa base et de largeur à mi-hauteur  $\Delta t$ . Elle permet ainsi de sélectionner les photons marqués provenant d'une zone de taille  $\Delta y = v_{US} \Delta t$  autour de  $y_0$ . Ainsi, pour imposer une résolution axiale  $\Delta y = 1 \text{ mm}$ , il suffit de créer un motif à bascule de phase aléatoire tel que  $\Delta t = \frac{\Delta y}{v_{US}} = 0,67 \mu\text{s}$ . La fonction de filtrage spatial  $g_1$  a un maximum qui varie proportionnellement au nombre  $N_b$  de bascules de phase dans le motif aléatoire, et ses fluctuations varient comme  $\sqrt{N_b}$ . Par conséquent, le filtrage spatial des photons marqués dans la direction de propagation des ultrasons s'effectue avec un rapport signal à bruit qui varie en  $\sqrt{N_b}$ . Il est donc important de créer des motifs à bascule de phase aléatoire comportant un grand nombre de bascules afin de ne pas détériorer la sensibilité de la détection.



**Figure 2.8** – Représentation temporelle (a) et spatiale (b) de la fonction d'autocorrélation  $g_1$  de la modulation de phase aléatoire de temps caractéristique  $\Delta t = 5 \mu\text{s}$  ( $\Delta y = 7,5 \text{ mm}$ ) pour  $N_b = 10000$  bascules (courbe bleue) et  $N_b = 1000$  bascules (courbe rouge discontinue).

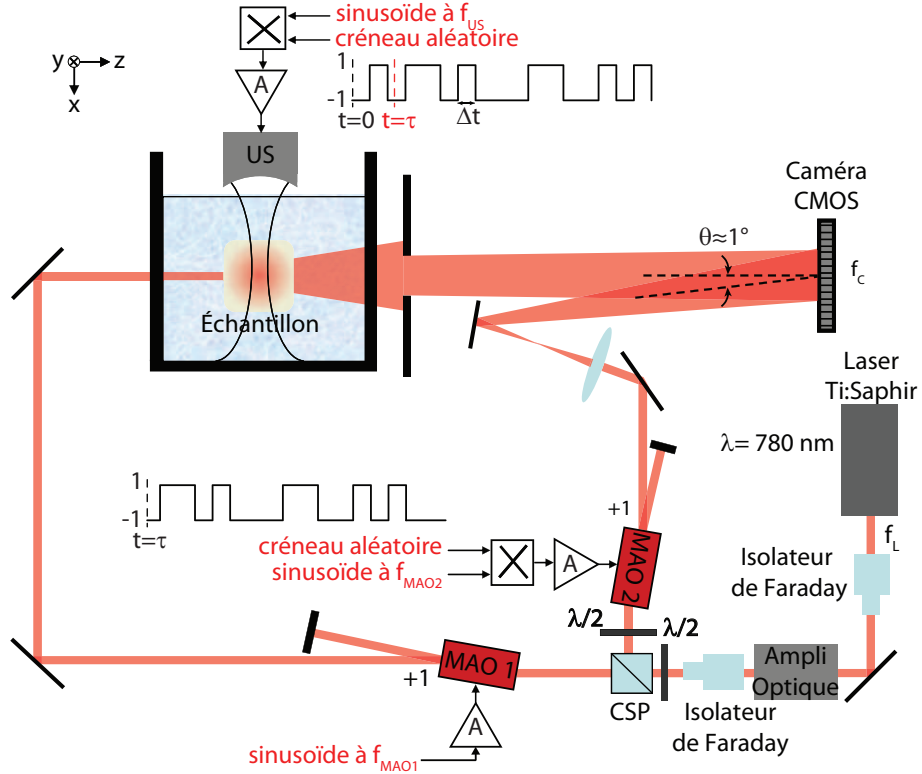
## 2.3 Réalisation expérimentale

### 2.3.1 Montage expérimental

**Matériel** Le montage expérimental de la TAOC en détection numérique hétérodyne hors axe est schématisé sur la figure 2.9. Nous avons commencé par utiliser comme source lumineuse un laser Ti:Saphir monomode continu (*Coherent, MBR 110*) puis nous avons acquis une diode laser en cavité étendue (*Sacher Lasertechnik*) plus compacte. Ces deux sources fonctionnent à  $780 \text{ nm}$  et offrent une puissance d'environ  $250 \text{ mW}$ , ce qui reste faible pour traverser des milieux diffusants de quelques centimètres d'épaisseur. Le faisceau laser est donc injecté dans un amplificateur optique ("tapered amplifier", *Sacher Lasertechnik*) avant d'être divisé en deux par un cube séparateur de polarisation.

Le faisceau objet sonde l'échantillon à étudier qui est immergé dans une cuve d'eau afin de réaliser une adaptation d'impédance avec le transducteur acoustique qui l'insonifie (*Panametrics A395S*,  $f_{US} = 2.3 \text{ MHz}$ , distance focale =  $78 \text{ mm}$ , diamètre =  $38 \text{ mm}$ ). Lorsque ce ne sont

pas des tissus biologiques (blanc de poulet par exemple), les échantillons sont généralement des "fantômes", mélanges d'eau d'agar et d'Intralipide, qui imitent les propriétés de diffusion des tissus. L'introduction d'agar permet de réaliser des échantillons solides (gels), aux propriétés élastiques définies [111], et la concentration d'Intralipide est ajustée en fonction du coefficient de diffusion souhaité pour le gel [112]. Pour des raisons de visibilité, l'ensemble cuve et transducteur est représenté dans un plan perpendiculaire à celui du schéma. L'onde ultrasonore est émise selon l'axe  $y$ , la lumière se propage selon  $z$ . Un diaphragme est placé en sortie de l'échantillon diffusant, de forme circulaire ou rectangulaire. Le diamètre du cercle ou la largeur du rectangle sont de l'ordre de  $5\text{ mm}$  et le diaphragme est situé à environ  $40\text{ cm}$  de la caméra afin d'assurer un bon échantillonnage des grains de speckle sur plusieurs pixels de la caméra (cf. annexe A).



**Figure 2.9** – Montage expérimental de la TAOC avec détection par holographie hétérodyne hors axe. MAO : modulateur acousto-optique, MOPA : amplificateur optique, US : ultrasons, A : amplificateur électronique de puissance, CSP : cube séparateur de polarisation.

Le faisceau objet interfère avec le faisceau de référence qui arrive sur la caméra avec un angle  $\theta$  où l'hologramme est enregistré. La caméra rapide CMOS 12 bits *Photron FastCam SA4* présente une résolution maximale de  $1024 \times 1024$  pixels de  $20\text{ }\mu\text{m}$  de coté avec laquelle elle peut atteindre la vitesse de 7000 images par seconde.

Deux modulateurs acousto-optiques MAO1, MAO2 (*AA OptoElectronics*) sont insérés sur chacun des bras de l'interféromètre pour pouvoir contrôler la fréquence des faisceaux optiques. Ces appareils fonctionnent à la fréquence nominale de  $80\text{ MHz}$  ce qui nous oblige à soustraire la contribution de deux modulateurs pour obtenir le décalage en fréquence souhaité :

$$f_{MAO2} - f_{MAO1} = f_{US} - \frac{f_{mod}}{n} \quad (2.38)$$

**Génération du motif aléatoire** Nous avons décrit jusqu'ici le montage de l'imagerie acousto-optique par holographie hétérodyne hors axe. Pour le transformer en TAOC, il faut ajouter la modulation de phase aléatoire sur l'onde acoustique et le faisceau de référence. Le modulateur

acousto-optique MAO2 et le transducteur acoustique sont habituellement pilotés par des sinusoïdes. Au lieu de moduler en phase ces sinusoïdes, on les multiplie par une fonction créneau prenant aléatoirement les valeurs 1 ou -1 par période  $\Delta t$ , à l'aide de mélangeurs de signaux passifs (*Mini-Circuits ZAD-1H*). Les deux sinusoïdes, à  $f_{AOM2}$  et  $f_{US}$ , sont produites par un générateur de fonctions arbitraires à deux voies *Tektronix (AFG3102)* et les deux fonctions créneaux aléatoires identiques sont produites par deux générateurs de fonctions arbitraires *Agilent (33250A)*. Les horloges internes de ces appareils sont synchronisées.

Le motif aléatoire est chargé sur les *Agilent* via une communication GPIB comme une série de points, obtenue grâce à la fonction *rand* de *Matlab*. La fréquence de lecture du motif  $f_{lect}$  détermine le pas temporel  $\Delta t$  de la modulation aléatoire. Par exemple, pour avoir  $\Delta t = 1 \mu s$  avec un motif de  $2^{14} = 16384$  points, le générateur *Agilent* doit fonctionner à  $T_{lect} = \frac{1}{f_{lect}} = 16,384 ms$ . Comme les signaux sont continus, le retard  $\tau$  à introduire entre les deux motifs aléatoires pour cibler une zone en  $y_0$  sous le transducteur est remplacé par un déphasage  $\Delta\phi$  tel que :

$$\Delta\phi = 360^\circ \frac{y_0}{v_{US} T_{lect}} \quad (2.39)$$

Même si les appareils *Agilent* sont synchronisés, ils présentent un déphasage à l'allumage  $\Delta\phi_0$  qu'il faut annuler manuellement pour ne pas introduire d'erreur sur  $\Delta\phi$ . En pratique, nous visualisons les deux sorties "synchro" des *Agilent* sur un oscilloscope et ajustons la phase d'un des *Agilent* jusqu'à ce que les deux signaux soient simultanés. Nous assignons enfin cette phase à la phase  $0^\circ$ .

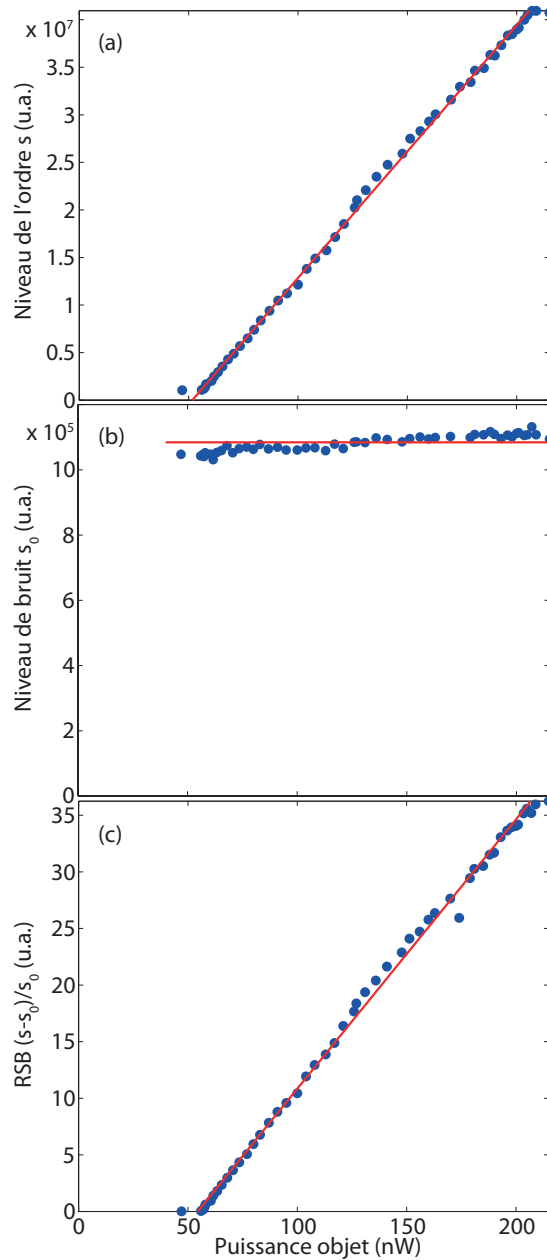
### 2.3.2 Sensibilité expérimentale de l'holographie hétérodyne hors axe

En plus du filtrage spatial et temporel, la détection par holographie numérique hétérodyne hors axe apporte une forte amplification du signal, appelée gain hétérodyne. Dans des conditions de fort gain hétérodyne, où la puissance de la référence est supérieure à la puissance objet d'au moins deux ordres de grandeur, Verpillat et al. ont démontré et vérifié expérimentalement que ce système de détection fonctionne au bruit ultime du *shot noise* de la référence, qui vaut 1 photo-électron par pixel dans l'espace réciproque [113]. Nous souhaitons vérifier que notre montage expérimental d'holographie numérique hétérodyne hors axe atteint cette sensibilité.

Pour cela, nous observons la variation du niveau de signal  $s$  et du niveau de bruit  $s_0$  sur la densité spectrale d'énergie d'un hologramme complexe obtenu après démodulation 4 phases quand la puissance de la référence varie à puissance objet fixe et inversement. L'objet est un gel diffusant d'agar et Intralipide 10% de 2 cm d'épaisseur ( $l^* \simeq 1 mm$ ) dans la direction de propagation de la lumière. Rappelons qu'un exemple de densité spectrale d'énergie est représenté sur la figure 2.5 où sont délimitées les zones d'évaluation du signal et du bruit. Nous suivons également l'évolution du signal normalisé  $s_N$  défini par l'équation 2.23, qui équivaut au rapport signal à bruit sur la densité spectrale d'énergie.

**Variation de la puissance objet à puissance de référence fixe** Le gel diffusant est éclairé faiblement avec au maximum 100 mW de puissance incidente. En jouant sur la tension d'alimentation du modulateur acousto-optique MAO2, nous faisons varier la puissance objet arrivant sur la caméra entre 40 et 200 nW. La valeur de cette puissance objet est mesurée avec un puissance-mètre (*Gentec-ε*, avec photo-détecteur silicium *PH100-Si*). La figure 2.10 compile ces mesures à puissance fixe pour la référence de  $P_{ref} = 8 \mu W$ . Comme attendu, le niveau de signal  $s$  dans un ordre de la densité spectrale est une fonction linéaire de la puissance objet (figure 2.10(a)) puisque

d'après l'équation 2.22, il est proportionnel au produit  $I_R I_{M+}$ . Le bruit est quasiment constant en fonction de la puissance objet ce qui démontre que le faisceau objet n'est pas la source de bruit. En conséquence des deux remarques précédentes, le rapport signal à bruit de la densité spectrale varie linéairement avec la puissance objet, comme en témoigne la courbe 2.10(c).



**Figure 2.10** – Évolution du niveau de signal  $s$  dans un ordre (a), du niveau de bruit  $s_0$  hors des ordres (b) et du rapport signal à bruit (c) de la densité spectrale d'énergie de l'hologramme en fonction de la puissance objet à puissance de référence fixe  $P_{ref} = 8 \mu W$ .

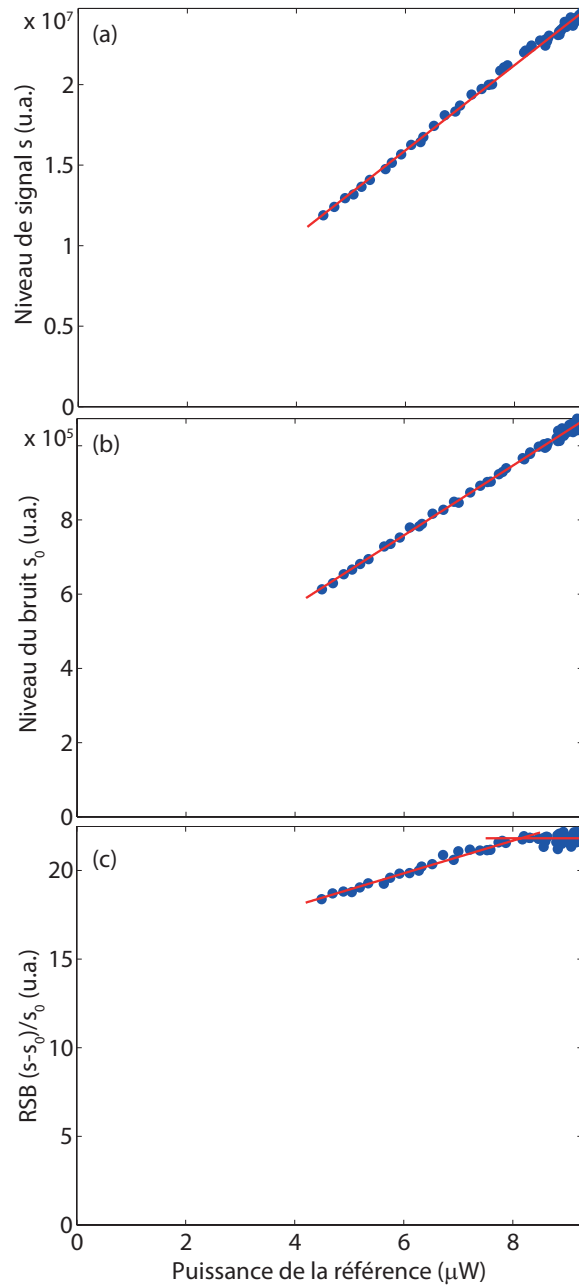
### Variation de la puissance de la référence à puissance objet fixe

- Dans cette première expérience, la puissance objet reçue par la caméra est fixée à  $P_{obj} \simeq 150 \text{ nW}$  et nous faisons varier la puissance de la référence en jouant, cette fois, sur la tension d'alimentation du modulateur acousto-optique MAO1. Les mesures sont portées sur les courbes de la figure 2.11. Le niveau de signal dans l'ordre augmente linéairement avec la puissance de la référence. Il en est de même pour le bruit. En revanche, le rapport signal à bruit n'est pas constant ce qui montre que le bruit limitant n'est pas le bruit de photons de

la référence. En effet, dans le cas où le bruit limitant est le bruit de photons de la référence, qui répond à une loi de Poisson et varie donc en  $\sqrt{N_R}$  ( $N_R$  est le nombre de photons du faisceau de référence), le bruit  $s_0$  sur la densité spectrale d'énergie est proportionnel à  $N_R$ . Une estimation du rapport signal à bruit RSB sur la base du nombre de photons donne :

$$RSB \propto \frac{(N_R N_S + N_R) - N_R}{N_R} \propto N_S \quad (2.40)$$

où  $N_S$  est le nombre de photons du faisceau signal. Ainsi, à puissance objet fixe,  $N_S$  étant constant, le rapport signal à bruit devrait être constant si le bruit limitant est le bruit de photons de la référence.

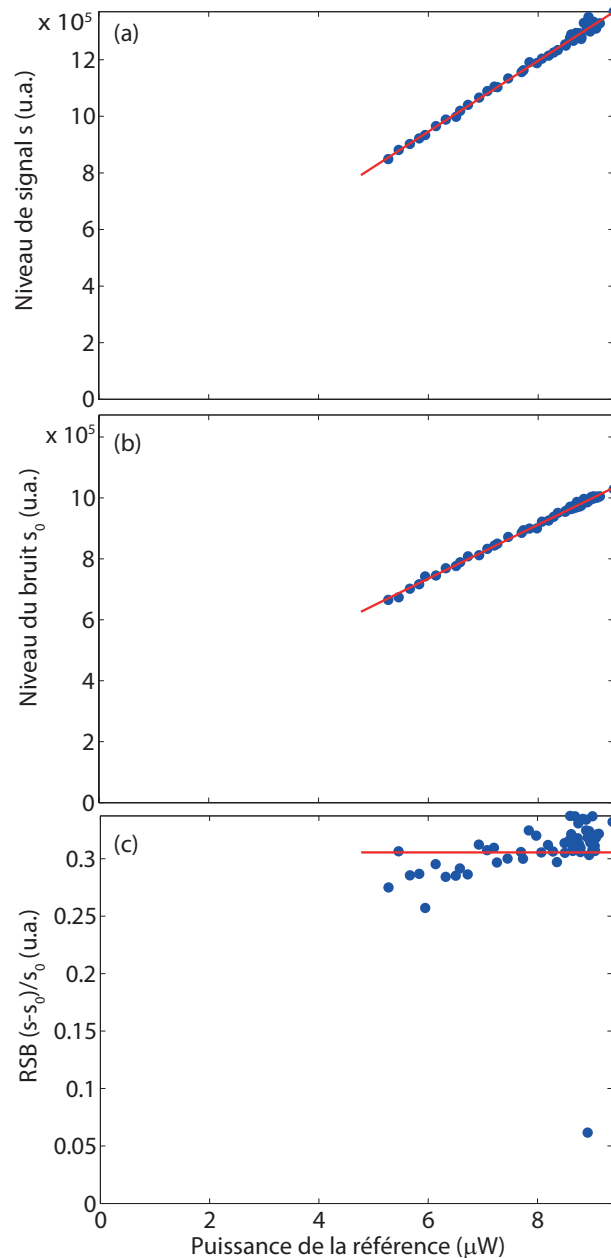


**Figure 2.11** – Évolution du niveau de signal  $s$  dans un ordre (a), du niveau de bruit  $s_0$  hors des ordres (b) et du rapport signal à bruit (c) de la densité spectrale d'énergie de l'hologramme en fonction de la puissance de la référence à puissance objet fixe  $P_{obj} = 150 \text{ nW}$ .

La courbe 2.11 est toutefois constante en partie pour des puissances de la référence supérieures à  $8 \mu\text{W}$ , c'est-à-dire pour des rapports de puissances référence/objet supérieurs à 50.

La sensibilité de détection n'est donc pas optimale pour des puissances plus faibles de la référence. Une explication possible est que lorsque le rapport des puissances est plus faible, le bruit de photons est lié au flux lumineux total et non plus à la référence seule.

- Afin de vérifier que le rapport signal à bruit est constant pour un rapport de puissances plus faible, nous reproduisons l'expérience précédente en fixant la puissance objet reçue par la caméra à une valeur moindre :  $P_{obj} \simeq 60 \text{ nW}$ . La courbe 2.12(c) confirme que le rapport signal à bruit reste constant avec un écart de 5% par rapport à la valeur moyenne.



**Figure 2.12** – Évolution du niveau de signal  $s$  dans un ordre (a), du niveau de bruit  $s_0$  hors des ordres (b) et du rapport signal à bruit (c) de la densité spectrale d'énergie de l'hogramme en fonction de la puissance de la référence à puissance objet fixe  $P_{obj} = 60 \text{ nW}$ .

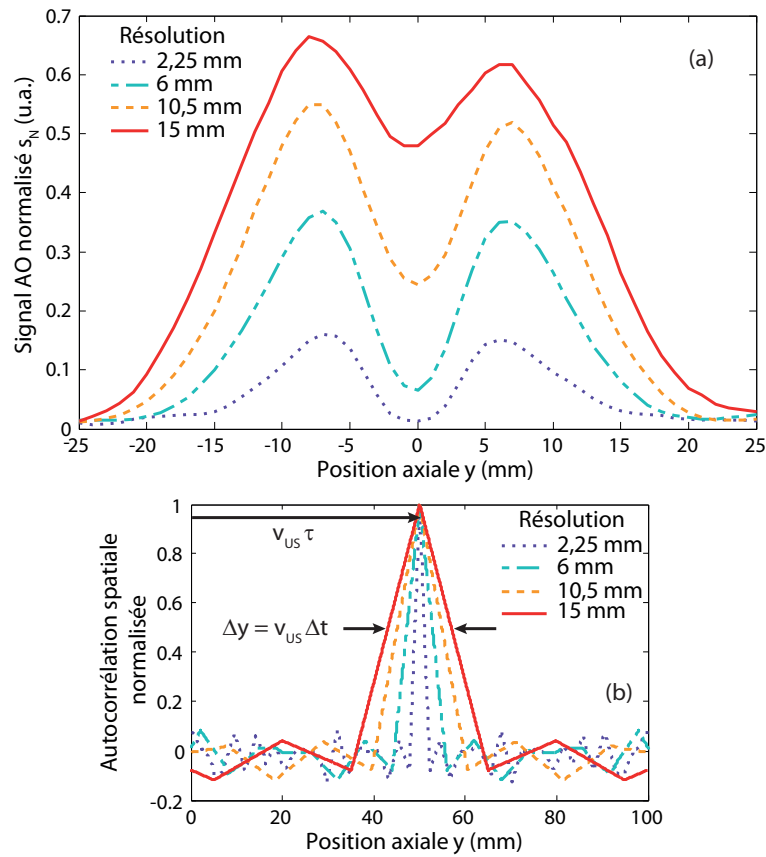
Ces mesures démontrent que notre montage expérimental d'holographie hétérodyne hors axe fonctionne de manière optimale avec un bruit limitant égal au bruit de photons de la référence à condition d'avoir un rapport entre les puissances objet et de la référence supérieur à 50. En



pratique, ce seuil de rapport des puissances est généralement atteint pour l'imagerie d'échantillons diffusants épais.

### 2.3.3 Contrôle de la résolution axiale

Pour vérifier expérimentalement que nous contrôlons la résolution axiale du système, nous avons imagé une inclusion absorbante dans un gel diffusant pour plusieurs valeurs de  $\Delta t$ . Le "fantôme" d'agar et Intralipide 10% fait 3 cm d'épaisseur dans la direction de propagation de la lumière et a un libre parcours moyen de transport  $l^* \simeq 1$  mm. L'inclusion est de même composition que le reste du gel mais contient, en plus, de l'encre de Chine pour absorber la lumière. L'éclairement en entrée de l'échantillon est de l'ordre de  $10 \text{ W.cm}^{-2}$ . Cette valeur est démesurée par rapport aux normes médicales et dépasse même nos besoins en puissance lumineuse pour obtenir une image de bonne qualité. Cet éclairement peut être réduit en élargissant le faisceau laser avant de l'envoyer sur l'échantillon. Une détection 2 phases est réalisée et la caméra fonctionne à la cadence  $f_C = 500 \text{ Hz}$  à pleine résolution ( $1024 \times 1024$  pixels). Chaque profil axial est moyenné 20 fois.

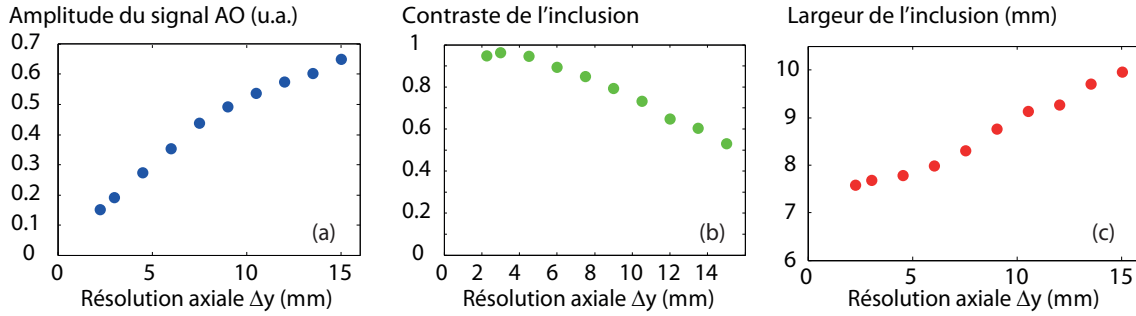


**Figure 2.13** – Profils axiaux d'un gel diffusant contenant une inclusion pour plusieurs valeurs de résolution choisies (a) et fonctions d'autocorrélation normalisées correspondantes (b). Résultat publié dans [109].

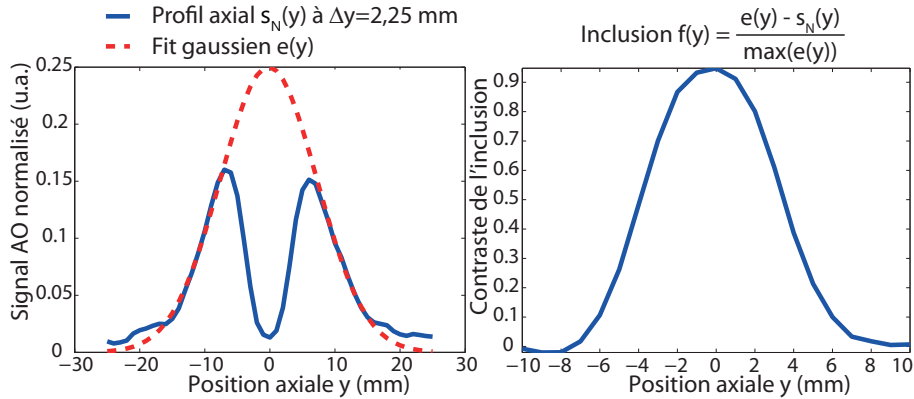
La figure 2.13(a) montre quatre profils axiaux (selon l'axe  $y$ ) de cet échantillon à des résolutions de 2,25 mm, 6 mm, 10,5 mm et 15 mm correspondant à des  $\Delta t$  de 1,5  $\mu s$ , 4  $\mu s$ , 8  $\mu s$  et 10  $\mu s$ . Le motif aléatoire de base possède 100 bascules à un pas de 2  $\mu s$  puis il est dilaté ou comprimé en changeant la période de lecture pour faire varier la résolution, et répété pour couvrir le temps d'acquisition. Les fonctions  $g_1$  associées à chaque motif sont représentées sur la figure 2.13(b). La largeur du pic d'autocorrélation augmente quand  $\Delta t$  passe de 1,5  $\mu s$  à 10  $\mu s$  si bien que le contraste de l'inclusion décroît de 95% à 54%.

Les courbes d'évolution du contraste et de la taille de l'inclusion ainsi que de l'amplitude du profil acousto-optique en fonction de la résolution ont été tracées sur la figure 2.14 pour un plus grand nombre de valeurs de résolution testées. Pour extraire le contraste et la taille de l'inclusion pour chaque profil expérimental, nous ajustons le profil par une enveloppe Gaussienne  $e(y)$  qui constitue une bonne approximation de la tache de diffusion. La soustraction de l'enveloppe et du profil acousto-optique donne alors la forme de l'inclusion  $f(y)$  comme on peut le voir sur la figure 2.15. La taille de l'inclusion correspond à la largeur à mi-hauteur de  $f$  et le contraste  $c$  est donné par :

$$c = \frac{\max(f) - \min(f)}{\max(e)} \quad (2.41)$$



**Figure 2.14** – Évolution des caractéristiques apparentes de l'inclusion en fonction de la résolution axiale : (a) l'amplitude du signal, (b) le contraste de l'inclusion, (c) la largeur à mi-hauteur de l'inclusion. Résultat publié dans [109].



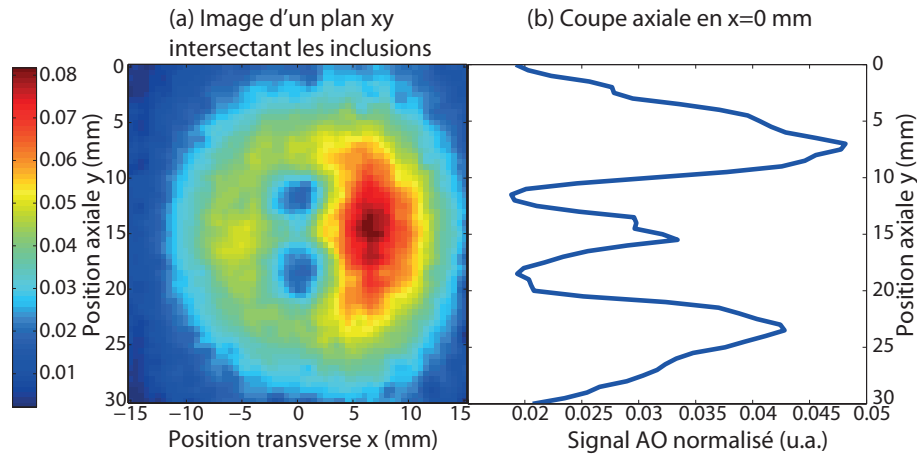
**Figure 2.15** – Extraction de l'inclusion absorbante à partir d'un profil et de son enveloppe.

La figure 2.14 montre que l'amplitude du signal acousto-optique et le contraste de l'inclusion ont des sens de variation opposés en fonction de la résolution  $\Delta y$ . Ceci est logique puisqu'en cherchant à améliorer la résolution, on réduit la taille de la zone de marquage, diminuant par la même occasion le nombre de photons marqués. Il existe donc un compromis entre l'exigence de résolution et le niveau de signal acousto-optique.

Tant que la résolution est inférieure à la taille de l'objet absorbant, le contraste et la taille de l'inclusion restent relativement constants, ce qui nous permet de donner une estimation du diamètre de l'absorbeur. D'après les premiers points du graphique 2.14(c), le diamètre de l'inclusion sur le profil acousto-optique vaut 7,5 mm, soit 25% plus que la taille réelle de 6 mm. Cette différence s'explique par l'inhomogénéité de la distribution de la lumière dans le milieu diffusant contenant l'inclusion, caractérisée par une plus forte probabilité d'absorption au voisinage de l'inclusion que dans le reste du milieu. L'inclusion absorbante induit une zone d'ombre autour d'elle. Ce problème

met en avant l'utilité d'un modèle théorique basé sur les équations de diffusion de la lumière permettant de retrouver les caractéristiques de l'absorbeur à partir d'un profil acousto-optique. Ce sujet sera abordé dans le chapitre 5 de la thèse.

Une autre manière de tester la résolution du système est de discriminer deux inclusions absorbantes de petite taille et placées proche l'une de l'autre dans un milieu diffusant épais. Cette expérience a été réalisée avec un gel d'agar et d'Intralipide 10% de 4 cm d'épaisseur présentant un libre parcours moyen de transport d'environ 1 mm. Les deux inclusions cylindriques absorbantes enfouies dans ce gel mesurent  $3 \times 3 \times 5 \text{ mm}^3$  dans les directions respectives  $x$ ,  $y$  et  $z$  et sont distantes de 3,5 mm bord à bord. L'éclairement de l'échantillon vaut environ  $10 \text{ W.cm}^{-2}$ . La caméra fonctionne en détection 2 phases à  $f_C = 500 \text{ Hz}$  en pleine résolution. Le signal est moyenné 10 fois.



**Figure 2.16** – Image de deux inclusions de  $3 \times 3 \times 5 \text{ mm}^3$  séparées de 3,5 mm à travers une épaisseur optique de  $40 \text{ } l^*$ . Résultat publié dans [109].

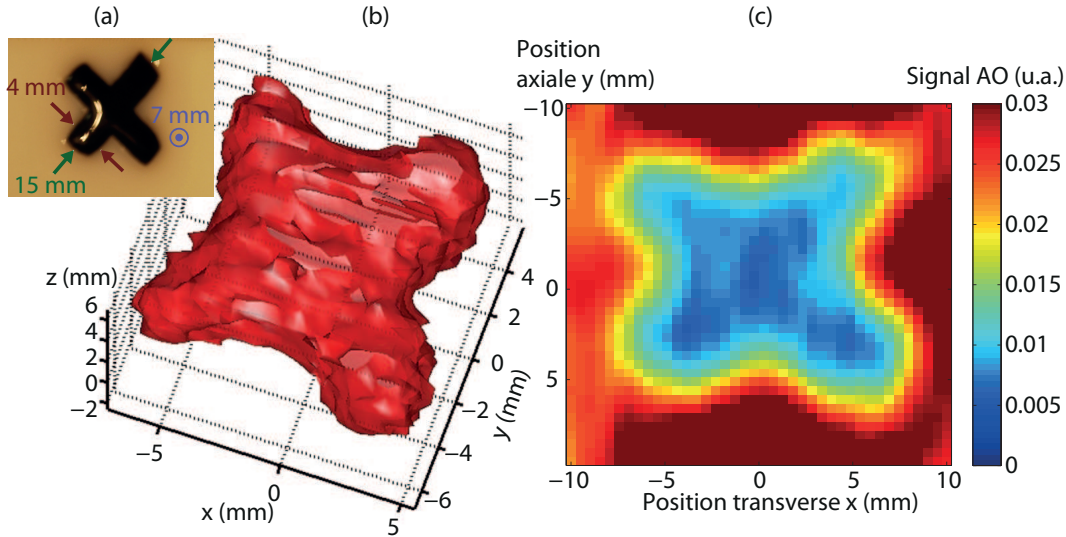
La figure 2.16(a) représente l'image acousto-optique en deux dimensions de cet échantillon dans un plan  $xy$  situé environ à mi-épaisseur dans le milieu et intersectant les inclusions. Le motif de modulation de phase aléatoire utilisé a un temps de bascule  $\Delta t = 1,5 \mu\text{s}$  ce qui permet de travailler avec une résolution axiale de 2,25 mm. Sur l'image ainsi que sur le profil de coupe à  $x = 0 \text{ mm}$  de la figure 2.16, les deux inclusions sont bien résolues et ont une taille apparente proche de la réalité.

### 2.3.4 Performances d'imagerie en trois dimensions

L'amélioration de la résolution axiale obtenue par la méthode des phases aléatoires permet d'envisager une tomographie acousto-optique à trois dimensions à la résolution du millimètre cube. Pour obtenir une telle tomographie, il faut déplacer le foyer acoustique dans les trois dimensions. Le déplacement selon l'axe de propagation des ultrasons  $y$  ne nécessite pas de mouvement matériel du transducteur puisqu'il est obtenu en modifiant le retard  $\tau$  entre les deux modulations de phase aléatoire. En revanche, les déplacements selon  $x$  et  $z$  sont réalisés mécaniquement grâce à deux platines de translation motorisées sur lesquelles est fixé le transducteur.

Comme le montre la figure 2.17, l'image en trois dimensions d'une croix absorbante dissimulée dans un gel d'agar et Intralipide 10%, de 3 cm d'épaisseur, à  $l^* \simeq 1 \text{ mm}$  a été réalisée [114]. Les dimensions de l'absorbeur sont données sur la photographie 2.17(a). L'inclusion extraite de la tomographie apparaît sur la figure 2.17(b) en 3D et une section 2D de la croix est également

représentée en 2.17(c). Pour cette mesure, l'échantillon est éclairé à  $7,5 \text{ W.cm}^{-2}$  et la caméra est utilisée en détection 4 phases à  $1 \text{ kHz}$ , avec une résolution réduite de  $512 \times 512$  pixels. Le signal est moyenné 5 fois. La résolution axiale définie par le motif aléatoire est de  $2,25 \text{ mm}$  ( $\Delta t = 1.5 \mu\text{s}$ ). L'inclusion est à nouveau bien restituée par l'imagerie acousto-optique, ce qui confirme le potentiel de cette technique pour détecter des contrastes d'absorption à l'échelle millimétrique dans des milieux diffusants épais.



**Figure 2.17** – Tomographie acousto-optique en trois dimensions d'un gel diffusant contenant une croix absorbante. Résultat publié dans [114]

## 2.4 Conclusion

La TAOC associée à une détection par holographie numérique hétérodyne hors axe permet de faire de l'imagerie acousto-optique de grande sensibilité avec une résolution spatiale contrôlée, de l'ordre du millimètre dans les trois directions. Cette technique présente une large plage spectrale de fonctionnement simplement limitée par la réponse spectrale de la caméra, qui couvre le visible et le proche infrarouge. Ce dernier point constitue un avantage pour pouvoir cibler l'imagerie dans la fenêtre thérapeutique optique, autour de  $780 \text{ nm}$  et envisager des mesures fonctionnelles en variant la longueur d'onde d'illumination. De plus, comme nous l'avons évoqué au début du chapitre, l'utilisation de signaux optiques et acoustiques continus permet de maximiser le niveau de signal. En réalité, les normes médicales limitent le temps d'exposition aux ultrasons à environ  $1 \text{ ms}$ . L'idéal est donc d'utiliser une source lumineuse à longues impulsions d' $1 \text{ ms}$  comme le font Rousseau et al. en détection photoréfractive [77] ou avec un interféromètre de Fabry-Perot confocal [60]. À cet effet, nous avons acquis un laser Alexandrite de la société LightAge délivrant une énergie moyenne de  $200 \text{ mJ}$  sur des impulsions de  $1 \text{ ms}$  à une cadence de  $10 \text{ Hz}$ . Cependant, les impulsions de ce laser sont constituées d'une multitude de "spikes" de quelques microsecondes, ce qui engendre une perte de corrélation temporelle entravant la détection interférométrique.

Un inconvénient majeur de la détection numérique est le temps d'acquisition. L'imagerie se fait point par point et nécessite quelques dizaines d'images par point selon le moyennage, prises à une cadence de plusieurs kHz. Ainsi, une ligne d'imagerie requiert environ  $50 \text{ ms}$  d'acquisition. Les caméras étant de plus en plus rapides, la durée d'acquisition tend à diminuer. À cela s'ajoutent le temps de transfert des images depuis le *buffer* de la caméra vers l'ordinateur et le temps de

traitement des données.

Il est possible de jouer sur ces deux tableaux pour accélérer le processus. Par exemple, dans le cadre de la microscopie par holographie numérique, la reconstruction des hologrammes se fait souvent directement sur la carte graphique de la caméra, en parallélisant les calculs sur différents GPUs [115]. Nous n'avons pas essayé ce type de système sur notre montage car cela nécessitait de changer de caméra et d'ordinateur. En revanche, nous travaillons en collaboration avec une équipe du CEA-LETI à Grenoble pour l'élaboration de capteurs intelligents permettant d'intégrer des calculs directement "*on chip*" [116]. Cela signifie que la carte électronique contient à la fois des détecteurs optiques et des circuits analogiques capables d'effectuer des opérations sur les signaux. Nous espérons que le gain de temps induit par ce nouveau capteur permettra de rendre la TAOC par détection caméra compatible avec l'imagerie *in vivo*.

Ces limitations nous ont poussés à privilégier la détection par holographie photoréfractive et l'imagerie par ligne permise par l'utilisation du régime impulsionnel ultrasonore dans le cadre de l'imagerie du petit animal. En outre, celle-ci s'avère plus compatible avec l'imagerie échographique standard.



---

Imagerie acousto-optique par holographie photoréfractive

---

**Table des matières**


---

3.1	Effet photoréfractif . . . . .	<b>54</b>
3.1.1	Principe . . . . .	54
3.1.2	Champ de charge d'espace . . . . .	55
3.1.3	Réseau d'indice de réfraction . . . . .	57
3.1.4	Caractéristiques de l'effet photoréfractif . . . . .	59
3.2	Détection standard du signal acousto-optique dans un cristal photoréfractif . .	<b>60</b>
3.2.1	Mélange à deux ondes . . . . .	61
3.2.2	Détection du signal acousto-optique . . . . .	63
3.2.3	Configuration expérimentale de détection avec cristal de SPS . . . . .	65
3.3	Holographie photoréfractive auto-référencée dans un cristal de BSO . . . . .	<b>69</b>
3.3.1	Création de l'hologramme auto-référencé . . . . .	70
3.3.2	Filtre de corrélation pour les photons marqués . . . . .	73
3.3.3	Résultat expérimental . . . . .	74
3.4	Conclusion . . . . .	<b>76</b>

---



Une alternative à la détection digitale est l'holographie photoréfractive. Au lieu d'être enregistré numériquement, l'hologramme d'interférence entre le faisceau de référence et le faisceau signal est inscrit physiquement dans un cristal par effet photoréfractif. Comme pour l'holographie classique sur plaque photosensible, le faisceau de référence sert aussi pour la relecture. Après diffraction sur l'hologramme, contenant les informations d'amplitude et de phase de l'objet, le front d'onde du faisceau de référence est adapté au front d'onde objet, ce qui induit une sommation cohérente des deux ondes en sortie du cristal. Cette propriété permet d'utiliser un détecteur mono-élément de grande surface tout en conservant une bonne étendue optique et de profiter ainsi de sa large bande passante, compatible avec la décorrélation des milieux biologiques épais, de l'ordre du kHz. Ce chapitre commence par une explication de l'effet photoréfractif. Nous décrivons ensuite l'holographie photoréfractive sur cristal de tin hypthiodiphosphate  $Sn_2P_2S_6$  telle que nous l'utilisons pour faire de l'imagerie acousto-optique dynamique. Enfin, nous évoquons une variante surprenante d'holographie photoréfractive dans un cristal d'oxyde de bismuth silicium  $Bi_{12}SiO_{20}$  sans référence, aussi dite auto-référencée.

## 3.1 Effet photoréfractif

L'effet photoréfractif a été découvert en 1966 au New Jersey, dans les Laboratoires Bell, où Ashkin et al. ont observé une modification de l'indice optique de cristaux de  $LiNbO_3$  et de  $LiTaO_3$  induite par un éclairage laser focalisé [117]. Provoquant une distorsion du front d'onde, cet effet non linéaire a d'abord été décrit comme un "dommage optique" indésirable. Puis, dès 1968, une meilleure compréhension du phénomène en a révélé le potentiel pour l'enregistrement d'hologrammes et la réalisation de mémoires optiques [118]. Pour une explication détaillée de la physique de l'effet photoréfractif, le lecteur pourra se référer aux ouvrages de P. Yeh [119] ou de P. Günter [120].

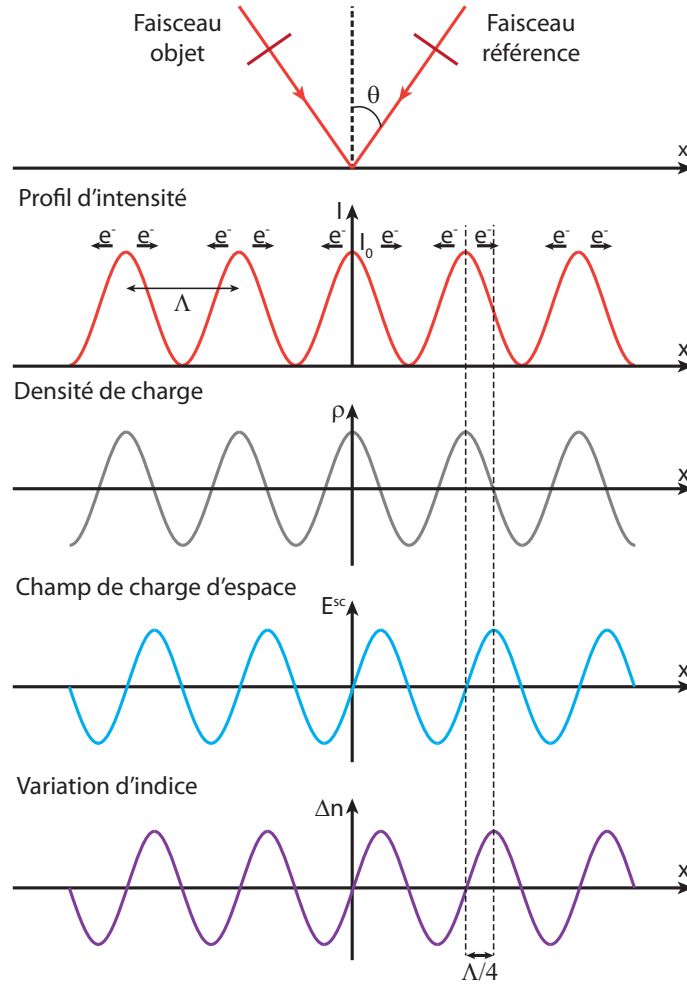
### 3.1.1 Principe

Un matériau photoréfractif doit être photoconducteur et électro-optique. Il existe plusieurs classes de cristaux photoréfractifs qui sont les ferroélectriques ( $LiNbO_3$ ,  $BaTiO_3$ ,  $Sn_2P_2S_6$ , etc.), les sillénites ( $Bi_{12}MO_{20}$ ,  $M = Ge, Si, Ti$ ), les semi-conducteurs massifs ( $AsGa$ ,  $CdTe$ ,  $InP$ , etc.), les matériaux à base de puits quantiques et les polymères. Le principe de l'effet photoréfractif est illustré sur la figure 3.1.

**Photoconduction** La photoconduction nécessite l'absorption de lumière par le cristal. Or la plupart des cristaux mentionnés dans l'introduction sont transparents dans le visible et le proche infrarouge. Les cristaux photoréfractifs sont donc, en général, dopés et quand ils ne le sont pas, ce sont des impuretés dans la maille cristalline qui jouent le rôle de centre donneur ou accepteur d'électrons. Un photon d'énergie adaptée provoque une photo-ionisation d'un centre, libérant ainsi des porteurs de charges, électrons ou trous. Ces porteurs de charge se déplacent dans le matériau par diffusion, sous l'effet d'un champ électrique, ou par effet photovoltaïque : cette étape est

la conduction. La redistribution des charges par rapport à la position fixe des espèces ionisées, engendrée par une illumination non uniforme telle qu'une figure d'interférence, donne naissance à un champ électrique, dit de charge d'espace.

**Effet électro-optique** Ce champ de charge d'espace produit une variation de l'indice de réfraction par effet électro-optique linéaire (effet Pockels). La figure d'interférence en entrée du cristal, d'amplitude modulée, est donc enregistrée sous forme d'une modulation d'indice optique.

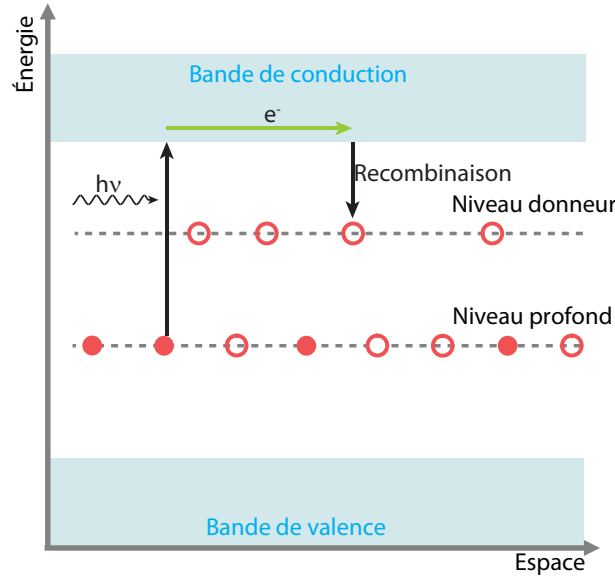


**Figure 3.1** – Étapes menant à l'enregistrement d'un réseau d'indice dans un cristal par effet photoréfractif. La variation périodique d'intensité dans le cristal donne naissance à un champ de charge d'espace par photoconduction et déplacement des charges, qui suit les mêmes variations que l'illumination avec un déphasage de  $\pi/2$  en régime diffusif (sans champ externe appliqué). Le réseau d'indice optique est induit par effet électro-optique linéaire.

### 3.1.2 Champ de charge d'espace

L'expression de la variation d'indice dans les cristaux photoréfractifs s'appuie le plus couramment sur le modèle de transport par bande pour expliquer les mécanismes de transfert de charges. Ce modèle a été développé par Kukhtarev et al. [121] et s'inspire des modèles décrivant la photoconduction dans les semi-conducteurs en considérant que le transport de charge repose sur le déplacement de porteurs libres dans la bande de valence et dans la bande de conduction, comme schématisé sur la figure 3.2. Il permet d'écrire de façon relativement simple les équations électrostatiques régissant la création du champ de charge d'espace. Il s'agit d'un système de quatre équations comprenant :

- l'équation de génération-recombinaison des centres accepteurs et donneurs d'électron, qui décrit la variation de densité de ces centres ;
- l'équation de conduction, qui caractérise le déplacement des électrons dans la bande de conduction ;
- l'équation de conservation de la charge, valable dans tout matériau ;
- l'équation de Poisson, qui exprime le potentiel électrique lié à une distribution de charges connue.



**Figure 3.2** – Schéma de bandes utilisé pour décrire l'effet photoréfractif. Les cristaux photoréfractifs contiennent des impuretés qui sont des centres donneurs ou accepteurs d'électrons, situés dans la bande interdite du matériau (niveau profond). Les donneurs peuvent être ionisés par excitation d'un photon d'énergie  $h\nu$  et libèrent un électron dans la bande de conduction, laissant place à un trou. Les électrons se recombinent ensuite sur les pièges. Les électrons sont mobiles alors que les espèces ionisées ne le sont pas, ce qui provoque la création d'un champ de charge d'espace.

Pour une illumination connue, ce système d'équations permet de trouver l'expression du champ de charge d'espace, comme une fonction de l'espace et du temps. Il n'a pas de solution analytique générale. Cependant, il existe une expression simple du champ de charge d'espace pour une illumination sinusoïdale à faible taux de modulation et quasi-continue du cristal photoréfractif, qui correspond à l'interférence entre deux ondes planes d'intensités très différentes. Nos applications n'entrent pas dans ce cadre d'illumination du cristal puisque le faisceau objet est un speckle et présente donc une variation spatiale transverse du champ. Néanmoins, comme nous pouvons décomposer le champ objet en une somme d'ondes planes, il est intéressant de comprendre le cas plus simple de l'interférence entre deux ondes planes.

Considérons donc deux ondes planes, l'onde objet d'amplitude complexe et de vecteur d'onde  $(E_S, \mathbf{k}_S)$  et l'onde de référence, appelée aussi onde de pompe, d'amplitude complexe et de vecteur d'onde  $(E_R, \mathbf{k}_R)$ . Ces deux ondes interfèrent conduisant à une illumination sinusoïdale du cristal dont l'intensité s'écrit :

$$I(r) = I_0(1 + \Re(m e^{i\mathbf{k}\cdot\mathbf{r}})), \quad (3.1)$$

où  $I_0$  est le flux moyen d'illumination,  $m$  le contraste ou taux de modulation des interférences (ici,  $m \ll 1$ ), et  $\mathbf{k} = \mathbf{k}_S - \mathbf{k}_R = k \mathbf{u}_k$  le vecteur d'onde du réseau, lié à son pas  $\Lambda$  par  $\Lambda = 2\pi/k$ .  $k$  et  $\mathbf{u}_k$  sont respectivement le module et le vecteur unitaire associés à  $\mathbf{k}$ .

L'effet photoréfractif est un phénomène macroscopique qui nécessite l'excitation et le déplacement d'un grand nombre de porteurs de charge, de l'ordre de  $10^{15} \text{ cm}^{-3}$  [122]. La mise en place

du champ de charge d'espace nécessite donc un certain temps. Nous cherchons ici à déterminer le champ de charge d'espace en régime établi, à l'état stationnaire. Ainsi nous ignorons sa dépendance temporelle. En injectant l'expression de l'illumination dans le système d'équations, on détermine le champ de charge d'espace  $\mathbf{E}^{\text{sc}}$ , qui est également sinusoïdal :

$$\mathbf{E}^{\text{sc}}(r) = \mathbf{E}_0 + \Re(\mathbf{E}_1 e^{i\mathbf{k}\cdot\mathbf{r}}) \quad (3.2)$$

où  $\mathbf{E}_0$  est le champ électrique éventuellement appliqué au cristal, et  $\mathbf{E}_1 = E_1 \mathbf{u}_{\mathbf{k}}$  le champ résultant de l'illumination non uniforme. En régime diffusif, lorsqu'aucun champ extérieur n'est appliqué ( $E_0 = 0$ ),  $E_1$  s'écrit :

$$E_1 = im \frac{k \frac{k_b T}{q}}{1 + \frac{k^2}{k_D^2}} \quad (3.3)$$

où  $k_b T$  est le produit de la constante de Boltzmann par la température,  $q$  la charge de l'électron et  $k_D = \frac{2\pi}{\Lambda_D}$  est le nombre d'onde de Debye associé à la longueur de Debye  $\Lambda_D$ . En physique des plasmas, la longueur de Debye fixe la distance limite d'interaction individuelle entre deux particules, au-delà de laquelle une séparation significative des charges peut avoir lieu :

$$k_D^2 = \frac{q^2 N_A}{\epsilon k_b T} \quad (3.4)$$

où  $N_A$  est la densité d'accepteurs ou d'impuretés positivement chargées capables de capturer un électron et  $\epsilon$  est la permittivité diélectrique. Il est intéressant de remarquer que le champ de charge d'espace est maximal pour  $k = k_D$ , c'est-à-dire pour un pas des franges d'interférence égal à la longueur de Debye. En outre, le champ de charge d'espace est un imaginaire pur et est donc déphasé de  $\pi/2$  par rapport à l'illumination. Nous reviendrons sur cette propriété par la suite car elle est à l'origine du transfert d'énergie entre les ondes se propageant dans le cristal.

### 3.1.3 Réseau d'indice de réfraction

Le champ de charge d'espace est à l'origine de la création d'un réseau d'indice de réfraction par effet électro-optique. Pour décrire les indices optiques vus par une onde, on utilise généralement l'ellipsoïde des indices. Dans les milieux non absorbants que nous étudions, il existe une base d'axes propres  $(x, y, z)$  où l'équation de l'ellipsoïde s'écrit :

$$\frac{x^2}{n_{xx}^2} + \frac{y^2}{n_{yy}^2} + \frac{z^2}{n_{zz}^2} = 1 \quad (3.5)$$

où les indices propres  $n_{ii}$  ( $i = x, y, z$ ) sont reliés aux éléments diagonaux  $\epsilon_{ii}$  du tenseur de permittivité diélectrique  $[\epsilon_r]$  par  $n_{ii}^2 = \epsilon_{ii}$ . Ainsi, en définissant le tenseur d'imperméabilité diélectrique  $[\eta]$  comme l'inverse du tenseur de permittivité diélectrique, l'équation 3.5 devient :

$$\eta_{xx}x^2 + \eta_{yy}y^2 + \eta_{zz}z^2 = 1 \quad (3.6)$$

où  $\eta_{ii}$  ( $i = x, y, z$ ) sont les coefficients diagonaux du tenseur  $[\eta]$ . Une variation  $[\Delta\eta]$  de l'imperméabilité diélectrique, de coefficients  $\Delta\eta_{i,j}$  ( $i, j = x, y, z$ ) va modifier l'ellipsoïde des indices, décrit alors par :

$$(\eta_{xx} + \Delta\eta_{xx})x^2 + (\eta_{yy} + \Delta\eta_{yy})y^2 + (\eta_{zz} + \Delta\eta_{zz})z^2 + 2\Delta\eta_{xy}xy + 2\Delta\eta_{xz}xz + 2\Delta\eta_{yz}yz = 1 \quad (3.7)$$

Cette nouvelle équation montre que les indices propres ont été modifiés par la variation des termes diagonaux et que l'orientation des axes principaux a changé suite à l'apparition des termes croisés.

Pendant la thèse, j'ai utilisé des cristaux de  $Sn_2P_2S_6$  (SPS) et de  $Bi_{12}SiO_{20}$  (BSO) qui ne sont pas centro-symétriques et dans lesquels l'effet électro-optique quadratique (effet Kerr) peut être négligé. La variation  $\Delta\eta_{ij}$  des coefficients du tenseur d'imperméabilité diélectrique se limite alors à une dépendance d'ordre 1 avec le champ de charge d'espace :

$$\Delta\eta_{ij}(E^{sc}) = \sum_k r_{ijk} E_k^{sc} \quad (3.8)$$

où  $r_{ijk}$  sont les coefficients du tenseur  $[r]$  caractérisant l'effet électro-optique linéaire dans la base  $(x, y, z)$  des axes du cristal et  $E_k^{sc}$  est la projection selon  $k$  ( $k = x, y, z$ ) du champ de charge d'espace. Comme le tenseur  $[\eta]$  est symétrique ( $\eta_{ij} = \eta_{ji}$ ), le tenseur  $[r]$  l'est également, ce qui permet d'adopter une notation contractée où les doubles indices sont remplacés par un indice unique selon la convention suivante :

$$xx \equiv 1; yy \equiv 2; zz \equiv 3; yz \equiv zy \equiv 4; xz \equiv zx \equiv 5; xy \equiv yx \equiv 6; \quad (3.9)$$

Avec cette notation contractée, l'équation 3.8 devient :

$$\begin{bmatrix} \Delta\eta_1 \\ \Delta\eta_2 \\ \Delta\eta_3 \\ \Delta\eta_4 \\ \Delta\eta_5 \\ \Delta\eta_6 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} r_{11} & r_{12} & r_{13} \\ r_{21} & r_{22} & r_{23} \\ r_{31} & r_{32} & r_{33} \\ r_{41} & r_{42} & r_{43} \\ r_{51} & r_{52} & r_{53} \\ r_{61} & r_{62} & r_{63} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} E_1 \\ E_2 \\ E_3 \end{bmatrix} \quad (3.10)$$

Voici la forme des tenseurs  $[r]$  pour les cristaux qui nous intéressent :

- Le BSO appartient à la classe cristallographique  $23$ , à symétrie cubique. Il s'agit d'un cristal isotrope d'indice optique  $n = 2,25$  à  $\lambda = 633 \text{ nm}$ . Ses coefficients électro-optiques sont tous nuls excepté  $r_{41}$ ,  $r_{52}$  et  $r_{63}$  qui sont égaux [123].

$$[r_{BSO}] = \begin{bmatrix} 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \\ r_{41} & 0 & 0 \\ 0 & r_{41} & 0 \\ 0 & 0 & r_{41} \end{bmatrix} \quad (3.11)$$

avec  $r_{41} = 3,6 \cdot 10^{-12} \text{ pm.V}^{-1}$  dans le visible.

- Le cristal ferroélectrique de SPS est de classe  $m$ , à symétrie monoclinique à condition de l'utiliser à des températures inférieures à sa température de transition de phase ( $337 \text{ K}$ ), qui correspond à un point de changement de symétrie. Il s'agit d'un cristal bi-axe qui présente trois indices de réfraction ( $n_1 = 2,9$ ;  $n_2 = 2,85$ ;  $n_3 = 2,98$  à  $780 \text{ nm}$ ).

Son tenseur électro-optique contient 10 coefficients non nuls indépendants :

$$[r_{SPS}] = \begin{bmatrix} r_{11} & 0 & r_{13} \\ r_{21} & 0 & r_{23} \\ r_{31} & 0 & r_{33} \\ 0 & r_{42} & 0 \\ r_{51} & 0 & r_{53} \\ 0 & r_{62} & 0 \end{bmatrix} \quad (3.12)$$

Tous les coefficients électro-optiques n'ont pas été mesurés mais on en trouve certains dans l'article [124] :  $r_{11} = 174 \text{ pm.V}^{-1}$ ,  $r_{21} = 92 \text{ pm.V}^{-1}$ ,  $r_{31} = 140 \text{ pm.V}^{-1}$  et  $r_{51} = 25 \text{ pm.V}^{-1}$  à  $633 \text{ nm}$  et à température ambiante.

Le calcul de la variation d'imperméabilité diélectrique  $\Delta\eta$  permet de connaître la variation d'indice optique induite par effet photoréfractif. Le réseau d'indice inscrit dans l'hologramme présente le même pas que la figure d'illumination et la même modulation toutefois moyennée sur le temps  $\tau_{PR}$  d'établissement de l'effet photoréfractif. Il s'écrit au premier ordre :

$$n(r) = n_m + \Re \left( \frac{n_1}{2} e^{i\psi} \langle m \rangle_{\tau_{PR}} e^{i\mathbf{k} \cdot \mathbf{r}} \right) \quad (3.13)$$

où  $n_m$  est l'indice moyen du cristal sans illumination et  $n_1$  est la variation d'indice réelle telle que :

$$n_1 = \frac{1}{2} n_m^3 |r_{eff}| |E_1| \quad (3.14)$$

$r_{eff}$  est le coefficient électro-optique effectif et dépend de l'orientation des faisceaux par rapport au cristal, de leur polarisation et des coefficients électro-optiques du matériau [125].  $\psi = \pm\pi/2$  englobe l'information du déphasage de  $\pi/2$  induit par le champ de charge d'espace qui est un imaginaire pur et du signe de  $r_{eff}$  qui dépend de l'orientation du cristal.

### 3.1.4 Caractéristiques de l'effet photoréfractif

Cette description de l'effet photo-réfractif permet d'en souligner les principales caractéristiques.

**Dépendance en énergie** L'effet photoréfractif est sensible à l'énergie et non à la puissance. Par conséquent une source laser à impulsions brèves aura le même effet sur le cristal qu'une source continue à condition d'éclairer plus longtemps ou que l'énergie de ses impulsions soit plus grande.

**Réversibilité et effet mémoire** Le cristal peut être ramené à son état d'origine par "effacement optique". En effet, un éclairage uniforme annule le champ de charge d'espace créé. En revanche, dans le noir, la variation d'indice inscrite persiste pendant un temps qui dépend de la conductivité du matériau dans le noir et peut atteindre plusieurs mois, en particulier dans les cristaux photoréfractifs ferroélectriques, type  $LiNbO_3$  [126].

**Bande-passante spectrale** L'effet photo-réfractif est non résonnant dans la mesure où le choix de la longueur d'onde est assez large, comprenant une grande partie du visible et du proche infrarouge. La sensibilité diminue cependant aux grandes longueurs d'onde car l'absorption est plus faible.

**Effet non local** L'équation 3.3 montre que le champ de charge d'espace est un imaginaire pur et est donc déphasé de  $\pi/2$  par rapport à l'illumination. Cette propriété se répercute sur la modulation d'indice, qui est, elle, déphasée de  $\psi = \pm\pi/2$  en fonction du signe de  $r_{eff}$ . Spatialement, le réseau d'indice est donc décalé de  $\pm\Lambda/4$  par rapport à la figure d'illumination. Cela va provoquer un transfert d'énergie cohérent entre les ondes qui se propagent dans le cristal. Le signe de  $\psi$  dépend du type de porteurs de charge, de la géométrie du cristal et de l'orientation de ses axes par rapport aux faisceaux incidents.

**Inertie** La création du champ de charge d'espace prend un certain temps en fonction de l'efficacité du transfert de charges dans le matériau et de la rapidité avec laquelle est délivrée l'énergie optique. Dans le cas d'une illumination sinusoïdale avec  $m \ll 1$ , le système de quatre équations mentionné au début du paragraphe 3.1.2 donne comme solution en régime transitoire [119] :

$$E_1(t) = E_1 \left[ 1 - e^{-t/\tau_{PR}} \right] \quad (3.15)$$

où  $E_1$  est le champ de charge d'espace à l'état stationnaire. Le temps de réponse  $\tau_{PR}$  caractérise l'inertie de l'établissement du champ de charge d'espace dans le cristal :

$$\tau_{PR} = \frac{\varepsilon}{q \mu N_0} \frac{1 + \frac{k_B T \mu k^2}{q \gamma_R N_A}}{1 + \frac{k^2}{k_D^2}} \quad (3.16)$$

où  $q$  est la charge de l'électron,  $\mu$  est la mobilité effective,  $N_0$  la densité d'électrons,  $\gamma_R$  le taux de recombinaison électron-trou et  $N_A$  la densité de centres accepteurs. Ce temps de réponse dépend donc du matériau. De plus, comme  $N_0$  est proportionnelle à l'illumination  $I_0$ ,  $\tau_{PR}$  est inversement proportionnel à  $I_0$  donc pour accélérer le processus il faut envoyer plus de puissance lumineuse. Enfin,  $\tau_{PR}$  varie également avec le pas des franges d'interférence.

Nous allons maintenant étudier le comportement des cristaux photoréfractifs en mélange à deux ondes afin de comprendre comment les utiliser pour la détection du signal acousto-optique.

## 3.2 Détection standard du signal acousto-optique dans un cristal photoréfractif

L'utilisation de l'holographie photoréfractive pour l'imagerie acousto-optique a été proposée simultanément par deux équipes de recherche en 2004. Aux États-Unis, Murray et al. ont utilisé un cristal de BSO sous champ électrique dans le vert (à 532 nm) [72] alors qu'en France, Ramaz et al. se sont servis d'un cristal de GaAs dans l'infrarouge (à 1064 nm) [73]. Bien que ces deux cristaux présentent un temps de réponse et un gain en mélange à deux ondes intéressants, leurs performances sont diminuées lorsqu'ils sont utilisés aux longueurs d'onde spécifiques de la fenêtre thérapeutique optique. Cette zone spectrale doit pourtant être privilégiée en imagerie médicale afin de maximiser le signal à détecter et discriminer des indicateurs physiologiques importants comme l'hémoglobine oxygénée  $HbO_2$  et désoxygénée  $HbO$ . Récemment, un cristal de SPS dopé au tellure a été utilisé par Farahi et al. dans notre laboratoire, pour imager à 790 nm [127] et nous continuons à utiliser cette famille de cristaux aujourd'hui. L'holographie photoréfractive est basée sur un mélange à deux ondes avec transfert d'énergie et adaptation de phase qui permet d'éliminer le problème de speckle, gênant pour la détection par un capteur mono-élément.

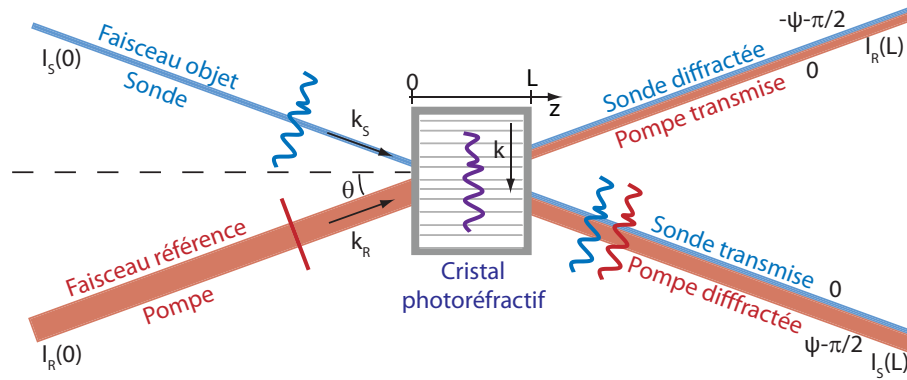


### 3.2.1 Mélange à deux ondes

**Diffraction par un réseau d'indice** Lorsque les faisceaux référence et signal, d'amplitudes complexes et de vecteurs d'onde respectifs  $(E_R, \mathbf{k}_R)$  et  $(E_S, \mathbf{k}_S)$ , interfèrent au niveau du cristal photoréfractif, l'hologramme inscrit, de vecteur d'onde  $\mathbf{k} = \mathbf{k}_S - \mathbf{k}_R$ , va induire la création d'un réseau épais d'indice dans le volume du cristal. Les deux faisceaux sont aussitôt diffractés par ce réseau dans les conditions d'accord de Bragg inhérentes aux réseaux épais qui impliquent l'existence d'un seul ordre de diffraction tel que :

$$\mathbf{k}_d - \mathbf{k}_i = \mathbf{k} \quad (3.17)$$

où  $\mathbf{k}_d$  est le vecteur d'onde du faisceau diffracté et  $\mathbf{k}_i$  est le vecteur d'onde du faisceau incident. Par conséquent, comme schématisé sur la figure 3.3, le faisceau référence diffracté se propage dans la direction du faisceau signal transmis et inversement, l'onde signal diffractée se propage dans la direction de l'onde de référence transmise.



**Figure 3.3** – Principe du mélange à deux ondes dans un cristal photoréfractif. Un réseau d'indice est créé dans le cristal suite à l'illumination non uniforme résultant de l'interférence entre les faisceaux objet et référence. En diffractant sur ce réseau d'indice contenant les informations de phase et d'amplitude de l'objet, la référence s'adapte en phase à l'objet. Un transfert d'énergie a lieu entre les deux faisceaux dont le sens dépend du signe de  $\psi$  ( $\psi = \pm\pi/2$ ).

La diffraction par le réseau d'indice procure aux faisceaux diffractés une avance de phase de  $\pi/2$  par rapport aux ondes transmises<sup>1</sup>. L'effet photoréfractif ajoute un déphasage supplémentaire  $\psi = \pm\pi/2$ . Au total, l'onde signal diffractée présente un décalage de phase de  $-\psi - \pi/2$  par rapport à l'onde de référence transmise tandis que l'onde de référence diffractée est décalée de  $+\psi - \pi/2$  par rapport à l'onde signal transmise, ces deux déphasages valant 0 ou  $\pi$  selon le signe de  $\psi$ . Ainsi, si  $\psi$  est positif l'onde signal diffractée et l'onde de référence transmise interfèrent de manière destructive mais l'onde signal transmise et la référence diffractée interfèrent constructivement. L'onde signal transmise est donc amplifiée. Si  $\psi$  est négatif, les interférences constructives ont lieu entre la référence transmise et le faisceau signal diffracté. Cependant le faisceau signal étant de faible puissance par rapport à la référence, on ne peut pas parler d'amplification dans ce cas-là. En pratique, on a tendance à orienter le cristal de manière à amplifier le signal ( $\psi > 0$ ) mais les deux cas de détection sont envisageables puisque l'information sur l'objet est toujours contenue dans l'onde diffractée.

1. La transmission d'un réseau de phase peut s'écrire  $t(x, y) = e^{i\Phi(x, y)} \simeq 1 + i\Phi(x, y)$ , pour une faible modulation. Le faisceau diffracté est alors déphasé de  $\pi/2$ .

**Rendement de diffraction** Pour calculer l'efficacité de diffraction d'un tel réseau, nous utilisons la théorie des modes couplés développée par Kogelnik [128]. L'analyse du couplage passe par la résolution de l'équation de propagation :

$$\nabla^2 E + \frac{\omega_L^2}{c^2} n^2 E = 0 \quad (3.18)$$

où  $E = E_S + E_R$ ,  $n$  est donné par l'équation 3.13,  $\omega_L$  est la pulsation optique des faisceaux incidents,  $c$  est la vitesse de la lumière et  $\nabla^2$  désigne l'opérateur Laplacien. Nous nous plaçons en régime stationnaire, où le réseau d'indice est moyenné sur le temps d'établissement de l'effet photoréfractif  $\tau_{PR}$ . Dans le cas d'une incidence symétrique des deux faisceaux sur un cristal d'absorption  $\alpha$  et en négligeant la biréfringence, les équations couplées s'écrivent [119] :

$$\frac{\partial E_R}{\partial z} = -\Gamma \frac{|E_S|^2}{2(|E_R|^2 + |E_S|^2)} E_R - \frac{\alpha}{2} E_R \quad (3.19)$$

$$\frac{\partial E_S}{\partial z} = \Gamma^* \frac{|E_R|^2}{2(|E_R|^2 + |E_S|^2)} E_S - \frac{\alpha}{2} E_S \quad (3.20)$$

où  $\Gamma$  est une constante de couplage, homogène à l'inverse d'une longueur, et vaut :

$$\Gamma = i \frac{2\pi n_1}{\lambda \cos \theta} e^{-i\psi} \quad (3.21)$$

où  $2\theta$  est l'angle entre les faisceaux incidents et  $n_1$  est la variation d'indice introduite par l'équation 3.14. Les amplitudes complexes  $E_R$  et  $E_S$  s'écrivent en fonction de leur amplitude réelle  $A_R = \sqrt{I_R}$  et  $A_S = \sqrt{I_S}$  et de leur phase  $\Phi_R$  et  $\Phi_S$  :

$$\begin{aligned} E_R &= A_R e^{-i\Phi_R} \\ E_S &= A_S e^{-i\Phi_S} \end{aligned} \quad (3.22)$$

En substituant ces expressions dans les équations couplées 3.19 et 3.20, on obtient un système d'équations sur les intensités des faisceaux  $I_R$  et  $I_S$  :

$$\frac{\partial I_R}{\partial z} = -\gamma \frac{I_S I_R}{I_S + I_R} - \alpha I_R \quad (3.23)$$

$$\frac{\partial I_S}{\partial z} = \gamma \frac{I_S I_R}{I_S + I_R} - \alpha I_S \quad (3.24)$$

où  $\gamma$  est la partie réelle de  $\Gamma$ , soit :

$$\gamma = \frac{2\pi n_1}{\lambda \cos \theta} \sin \psi \quad (3.25)$$

$\gamma$  s'exprime en  $\text{cm}^{-1}$  et est connu sous le nom de gain photoréfractif en mélange à deux ondes. Si on néglige l'absorption  $\alpha$  dans les équations ci-dessus, seul le signe de  $\gamma$  détermine le sens de variation de  $I_R$  et  $I_S$  en fonction de  $z$  et donc le sens du transfert d'énergie. Le signe de  $\gamma$  dépend de l'orientation des axes du cristal. D'après P. Yeh [119], ce système a pour solution :

$$I_R(z) = I_R(0) \frac{1 + Q^{-1}}{1 + Q^{-1} e^{\gamma z}} e^{-\alpha z} \quad (3.26)$$

$$I_S(z) = I_S(0) \frac{1 + Q}{1 + Q e^{-\gamma z}} e^{-\alpha z} \quad (3.27)$$

où  $Q$  est le rapport des intensités signal et référence à l'entrée du cristal tel que  $Q = I_R(0)/I_S(0)$ . Pour la détection du signal acousto-optique, il est important de connaître le facteur d'amplification  $g$  entre l'intensité du faisceau signal en entrée du cristal à  $z = 0$  et son intensité en sortie du cristal à  $z = L$ .

$$g = \frac{I_S(L)}{I_S(0)} = \frac{1 + Q}{1 + Q e^{-\gamma L}} e^{-\alpha L} \quad (3.28)$$

Par conséquent, les pertes provoquées par l'absorption du cristal sur le faisceau signal peuvent être compensées par le gain photoréfractif si  $\gamma > \alpha$ , ce qui correspond à un transfert d'énergie du faisceau référence vers le faisceau signal. Le gain en mélange à deux ondes dépend de nombreux paramètres dont certains peuvent être optimisés tels que l'angle entre les faisceaux incidents, leur longueur d'onde, la polarisation, etc. Expérimentalement, le choix du cristal est important mais aussi la configuration de mélange à deux ondes utilisée.

### 3.2.2 Détection du signal acousto-optique

La mesure du signal acousto-optique par holographie photoréfractive consiste en une détection cohérente d'un signal modulé en phase par le marquage ultrasonore grâce à un oscillateur local, le faisceau de référence. La détection cohérente implique que les deux faisceaux aient des fronts d'onde identiques. Or ce n'est pas le cas à l'entrée du cristal photoréfractif puisque le faisceau signal présente un front d'onde speckle suite à son passage dans un milieu multiplement diffusant tandis que le faisceau de référence est une onde plane. Cependant, en diffractant sur le réseau d'indice inscrit dans le cristal photoréfractif, la référence crée un oscillateur local en sortie du cristal, adapté en front d'onde avec l'onde objet et se propageant dans la même direction. Afin de comprendre comment la modulation de phase introduite par les ultrasons est transmise à travers le cristal et identifier le signal détecté, nous allons reprendre les points principaux de l'analyse détaillée faite par Delaye et al. dans l'article [129].

Soit  $\varphi(t)$  la modulation de phase du faisceau signal. Cette modulation est provoquée par des ultrasons envoyés à des fréquences de quelques  $MHz$ , ce qui signifie qu'elle varie sur un temps caractéristique de quelques  $\mu s$ . À l'entrée du cristal ( $z = 0$ ), le champ signal s'écrit :

$$E_S(x, y, 0, t) = E_S(x, y, 0) e^{i\varphi(t)} \quad (3.29)$$

Pour connaître le signal en sortie du cristal, on fait appel de nouveau aux équations de propagations couplées de la référence et du signal. Comme nous nous intéressons au devenir de la modulation de phase dans le temps, il faut faire apparaître la dépendance temporelle de ces équations, liée à la cinétique du champ de charge d'espace. Puisqu'il est souvent vérifié en pratique, on se place en régime d'excitation quasi-continue dans lequel l'illumination est considérée suffisamment faible pour que le temps d'établissement de l'effet photoréfractif soit grand devant le temps de recombinaison des porteurs de charge. L'amplitude  $E_1(t)$  du champ de charge d'espace obéit alors à l'équation différentielle suivante :

$$\frac{\partial E_1(t)}{\partial t} + \frac{E_1(t)}{\tau_{PR}} = m \frac{E_1}{\tau_{PR}} = m \frac{E_{sc}}{\tau_{PR}} \quad (3.30)$$

Pour ne pas confondre la fonction  $E_1(t)$  et la constante  $E_1$  du champ de charge d'espace à l'état stationnaire, nous utilisons la notation  $E_{sc} = E_1$ . En dehors du régime stationnaire, les équations couplées 3.19 et 3.20 rendent compte de la dépendance temporelle du champ de charge d'espace

et s'écrivent :

$$\frac{\partial E_R}{\partial z} = \frac{-\Gamma}{E_{sc}} \frac{|E_S|^2}{2(|E_R|^2 + |E_S|^2)} E_1(t) E_R - \frac{\alpha}{2} E_R \quad (3.31)$$

$$\frac{\partial E_S}{\partial z} = \frac{\Gamma^*}{E_{sc}} \frac{|E_R|^2}{2(|E_R|^2 + |E_S|^2)} E_1(t) E_S - \frac{\alpha}{2} E_S \quad (3.32)$$

Dans [129], le système constitué des trois équations 3.30, 3.31 et 3.32 est résolu en s'appuyant sur quatre hypothèses :

- le faisceau de référence ne présente pas de modulation temporelle ;
- la déplétion de la référence par mélange à deux ondes est négligée, ce qui suppose un faible gain photoréfractif et un écart fort de puissance entre le signal et la référence ;
- l'atténuation du faisceau de référence due à l'absorption du cristal est prise en compte ;
- à  $t=0$ , avant toute modulation temporelle, il existe un réseau d'indice à l'état stationnaire dans le cristal sur lequel se diffractent déjà les faisceaux.

Dans le cas d'une modulation de phase rapide devant la vitesse d'inscription du réseau dans le cristal photoréfractif, après avoir dérivé l'équation 3.32 par rapport au temps et injecté les expressions 3.31 et 3.30, la solution suivante est obtenue pour le champ signal transmis par transformée de Laplace [129] :

$$E_S(x, y, L, t) = e^{-\alpha L/2} \left[ E_S(x, y, 0) e^{i\varphi(t)} + (e^{\Gamma L} - 1) E_S(x, y, 0) \right] \quad (3.33)$$

Par conséquent, en sortie du cristal, dans la direction du faisceau incident objet, le champ est la somme de deux termes aux variations spatiales identiques  $E_S(x, y, 0)$  : on parle d'adaptation de front d'onde. Le premier terme correspond au faisceau objet transmis et le deuxième terme est le résultat de la diffraction de la référence sur le réseau d'indice inscrit dans le cristal. Le coefficient  $\eta_d = e^{\Gamma L} - 1$  est l'efficacité de diffraction. La somme se fait donc de manière cohérente en supprimant le terme de phase aléatoire du champ speckle. L'holographie photoréfractive conserve ainsi une grande étendue optique de détection malgré l'utilisation d'un capteur mono-élément, cette étendue étant limitée par la taille de la section d'entrée du cristal et par la qualité de la collection de lumière diffuse en sortie de l'échantillon. Finalement, un détecteur placé dans la direction de propagation du champ  $E_S$  enregistre le flux lumineux  $I_S$  qui vaut [129] :

$$I_S(x, y, L, t) = e^{-\alpha L} I_S(x, y, 0) \left[ 1 + (e^{\gamma L} - 1)^2 + 2(e^{\gamma L} - 1) \cos(\varphi(t)) \right] \quad (3.34)$$

Dans le cas d'une faible modulation de phase  $\varphi(t) \ll 1$ , une bonne approximation est :

$$I_S(x, y, L, t) \simeq e^{-\alpha L} I_S(x, y, 0) \left[ e^{2\gamma L} - (e^{\gamma L} - 1) \varphi^2(t) \right] \quad (3.35)$$

L'intensité dépend donc directement de la phase de l'onde objet, mais non linéairement. Soulignons que la modulation de phase  $\varphi(t)$  doit être rapide en comparaison avec le processus d'inscription de l'hologramme dans le cristal pour que le flux sortant contienne bien cette information de phase. En effet, le réseau d'indice inscrit dans le cristal est proportionnel à  $\langle m \rangle_{\tau_{PR}}$ , qui est le taux de modulation de la figure d'interférence moyenné sur le temps de réponse du cristal. Par conséquent, le réseau d'indice est proportionnel à une valeur de la modulation de phase moyennée sur  $\tau_{PR}$ . En diffractant sur ce réseau, la référence ne porte donc pas l'information de la modulation de phase. En revanche, l'onde objet transmise reste modulée en phase. L'intensité reçue par le détecteur est le module carré de la somme de ces deux champs (référence diffracté et objet transmis) et fait donc intervenir la phase  $\varphi(t)$  dans le terme croisé. Au contraire, si la modulation de phase est

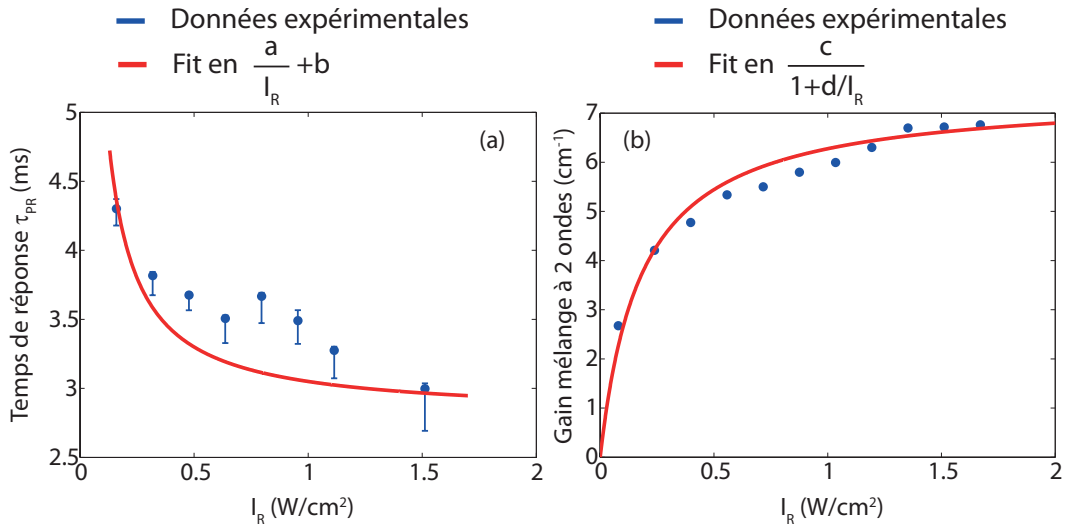
trop lente, le réseau d'indice s'adapte en permanence dans le cristal. Le champ objet transmis et le champ référence diffracté présentent alors les mêmes modulations de phase qui se neutralisent dans l'expression de l'intensité totale.

Finalement, l'information de marquage ultrasonore, caractérisée par une modulation de phase rapide, est bien transmise à travers l'holographie photoréfractive, ce qui garantit la localisation du contraste optique.

### 3.2.3 Configuration expérimentale de détection avec cristal de SPS

Pour l'imagerie acousto-optique par holographie photoréfractive classique, j'ai utilisé pendant ma thèse un cristal de SPS dopé au tellure à 1% de dimensions  $9 \times 9 \times 6 \text{ mm}^3$  dans les directions respectives  $x$ ,  $y$  et  $z$ . L'utilisation de ce cristal dans nos expériences est issue d'une collaboration avec Alexander A. Grabar, de l'Institut de Physique du Solide et de Chimie de l'Université d'Uzhgorod en Ukraine.

**Intérêt et performances du SPS** L'intérêt premier d'utiliser le SPS est de pouvoir travailler dans la fenêtre thérapeutique optique, autour de 800 nm. Cependant, nous avons vu précédemment que la qualité d'imagerie dépend fortement des performances du cristal. Les premières études de Odoulov et al. ont annoncé un bon gain en mélange à deux ondes dans le visible et le proche infrarouge avec des temps photoréfractifs courts [130, 131]. De plus, le dopage au tellure permet d'améliorer ces propriétés dans le proche infrarouge [132]. Dans notre laboratoire, Farahi et al. ont déjà démontré l'efficacité du SPS en réalisant des images acousto-optiques en trois dimensions [133].



**Figure 3.4** – Caractéristiques du cristal de SPS:Te utilisé pendant la thèse en fonction de l'éclairement de pompe : (a) temps de réponse photoréfractif, (b) gain en mélange à deux ondes.

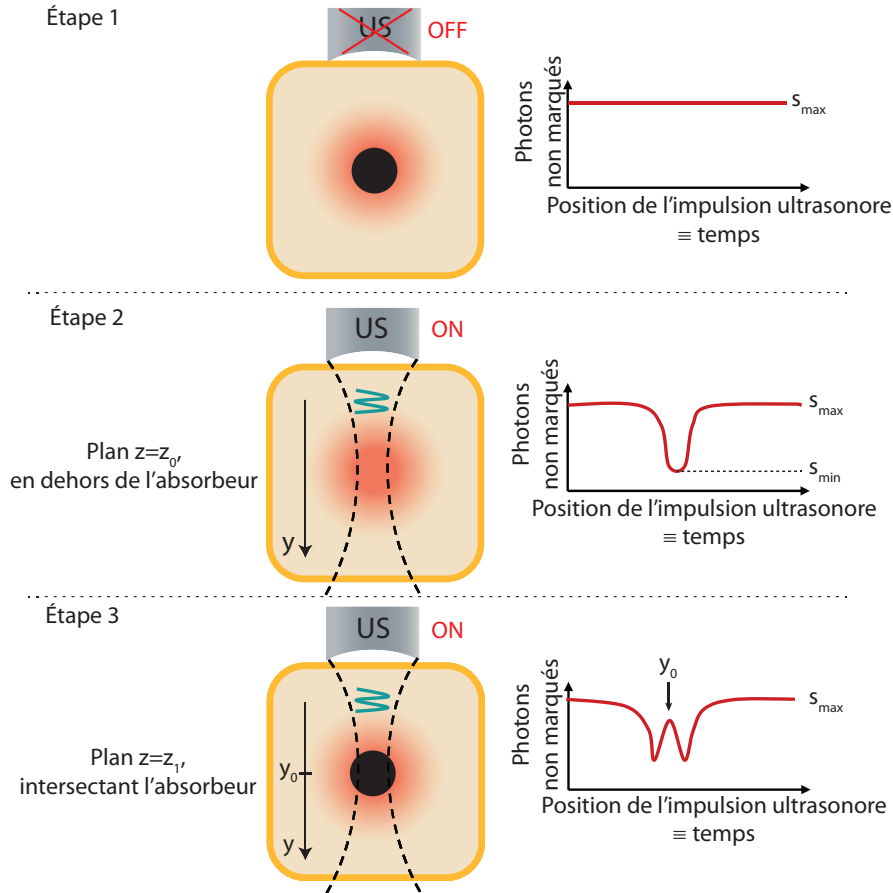
La figure 3.4 donne les valeurs du gain en mélange à deux ondes et du temps de réponse pour plusieurs éclairements appliqués grâce au faisceau de référence pour le cristal utilisé. Ces mesures ont été réalisées par Jean-Baptiste Laudereau pendant son stage dans notre équipe. La procédure de mesure du temps de réponse du cristal est décrite dans l'article [134].

Le gain photoréfractif est évalué en configuration de mélange à deux ondes à partir du rapport entre le signal détecté en présence de pompe et sans pompe :

$$\gamma = \frac{1}{L} \ln \left( \frac{I_S(L, \text{avec pompe})}{I_S(L, \text{sans pompe})} \right) \quad (3.36)$$

Avec un temps de réponse de quelques  $ms$  et un gain en mélange à deux ondes de  $6 \text{ cm}^{-1}$ , c'est-à-dire un facteur d'amplification  $g \simeq e^{(\gamma-\alpha)L}$  de 30 ( $\alpha = 0,4 \text{ cm}^{-1}$  à  $780 \text{ nm}$ , d'après [120], et  $L = 6 \text{ mm}$ ), pour un éclairage usuel de  $1 \text{ W.cm}^{-2}$ , ce cristal de SPS:Te présente de bonnes performances pour faire de l'imagerie acousto-optique dynamique. Le cristal de SPS représente aujourd'hui la meilleure solution de matériau photoréfractif fonctionnant à  $800 \text{ nm}$ .

**Détection des photons non marqués** Comme expliqué dans l'article [135], en contrôlant la fréquence du faisceau de référence on peut réaliser une sélection temporelle des photons marqués ou non marqués. Cependant, lorsque la technique des courtes impulsions ultrasonores est utilisée pour garantir une bonne résolution axiale, il est préférable de détecter les photons non marqués [72,127]. Une détection indirecte des photons marqués est ainsi réalisée sans avoir besoin d'introduire un décalage en fréquence sur la référence, ce qui nécessiterait d'ajouter, par exemple, deux modulateurs acousto-optiques dans le montage. Cette technique est appelée Imagerie Acousto-Optique Résolue en Temps (IAORT) car elle permet d'imager un objet diffusant par ligne, dans le temps de propagation de l'onde ultrasonore. Les trois étapes permettant d'aboutir à la localisation d'un contraste optique par détection des photons non marqués sont illustrées par la figure 3.5.



**Figure 3.5** – Principe de l'imagerie acousto-optique résolue en temps (IAORT).



- **Étape 1 : Hologramme statique des photons non marqués**

Considérons un échantillon diffusant épais dans lequel est enfouie une inclusion absorbant la lumière. Celui-ci est sondé par le faisceau signal, qui est ponctuel en entrée et diverge ensuite dans le milieu en raison de la diffusion multiple. Pour une détection en transmission, avec source et détecteur ponctuels, la répartition de la lumière est ellipsoïdale de grand axe confondu avec l'axe de propagation de la lumière et de section quasi-gaussienne dans un plan  $xy$ . Elle est souvent appelée "banane de diffusion" même si ce nom évoque plutôt la forme de la répartition de la lumière pour une détection en réflexion. Aucune onde acoustique n'est envoyée sur l'échantillon mais la tache lumineuse objet en sortie du milieu diffusant et la référence interfèrent déjà dans le cristal photoréfractif, inscrivant l'hologramme des photons non marqués (ou simplement diffusés). La lumière est émise en continu ainsi, après avoir dépassé le temps de réponse photoréfractif, le système est dans un état stationnaire. Le réseau d'indice dans le cristal est statique, moyenné sur le temps de réponse du cristal, et le signal détecté par la photodiode  $s_{max}$  est constant dans le temps.

- **Étape 2 : Détection de la tache de diffusion par conservation d'énergie**

Envoyons maintenant des ultrasons dans le milieu sous forme d'impulsions ultrasonores de 1 à 2  $\mu s$  de long. Ceci a pour effet de moduler en phase une partie des photons traversant le faisceau acoustique. Il existe alors en sortie du milieu une onde à la fréquence  $\omega_L$  et des ondes aux fréquences  $\omega_L \pm \omega_{US}$ , où  $\omega_{US}$  est la fréquence des ultrasons (on néglige les harmoniques supérieurs). Si on suit le même raisonnement qu'au chapitre 2 pour la détection par holographie numérique, l'intensité de la figure d'interférence est composée des termes d'intensité moyenne et de termes de battements entre la référence et les ondes objets ou entre les ondes objets elles-mêmes. De même que la caméra jouait le rôle d'un filtre passe-bas pour sélectionner uniquement le terme modulé proportionnel aux photons marqués, ici c'est le cristal photoréfractif qui remplit ce rôle avec une fréquence de coupure de l'ordre du kHz pour un temps de réponse  $\tau_{PR}$  de l'ordre de la ms. En revanche, comme la référence est adaptée à la fréquence des photons non marqués, le réseau d'indice se crée à partir du terme de battement des photons non marqués et de la référence. Comme à l'étape 1, l'hologramme inscrit (sous forme de réseau d'indice) est celui des photons non marqués.

Le point important, sur lequel repose toute la technique d'IAORT, est que cet hologramme n'a pas changé depuis l'étape 1 car l'impulsion ultrasonore traverse l'échantillon en quelques dizaines de  $\mu s$  ce qui ne laisse pas le temps à l'hologramme de se rafraîchir puisque ce temps reste petit devant  $\tau_{PR}$ . L'hologramme est inchangé mais l'amplitude de l'onde objet est modifiée car au passage de l'impulsion ultrasonore, des photons marqués sont créés dans la tache de diffusion et par conservation d'énergie, la quantité de photons non marqués diminue. En conséquence, la photodiode détecte une décroissance quasi-gaussienne du signal des photons non marqués jusqu'au niveau  $s_{min}$ , caractéristique de la répartition de la lumière dans la tache de diffusion.

- **Étape 3 : Détection d'un contraste optique dans la tache de diffusion**

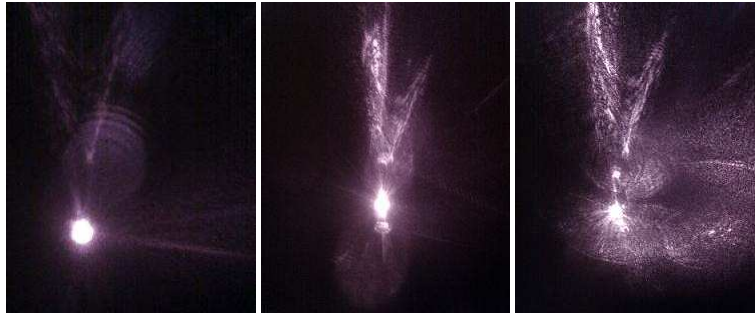
Le transducteur ultrasonore est déplacé et se trouve à présent au-dessus de l'inclusion absorbante, elle-même située dans la tache de diffusion de la lumière. La densité de photons au niveau de l'inclusion est très faible en raison de l'absorption et par conséquent, la quantité de photons marqués  $y$  est moindre. Le signal enregistré par la photodiode remonte alors vers le niveau  $s_{max}$  pour un temps qui correspond au temps de parcours des ultrasons entre le transducteur et l'inclusion.



En imageant ligne par ligne, à la vitesse de propagation des ultrasons ( $1500 \text{ m.s}^{-1}$  dans l'eau), l'IAORT permet un gain de temps considérable par rapport à une imagerie point par point. Malheureusement, cette technique reste spécifique à la détection par holographie photoréfractive car la bande passante des caméras actuelles n'est pas encore assez grande, en comparaison avec celle des photodiodes. La détection par variation des photons non marqués est par ailleurs plus sensible qu'une détection directe des photons marqués car la chute du signal est créée par les deux bandes spectrales à  $\pm\omega_{US}$  au lieu d'une seule.

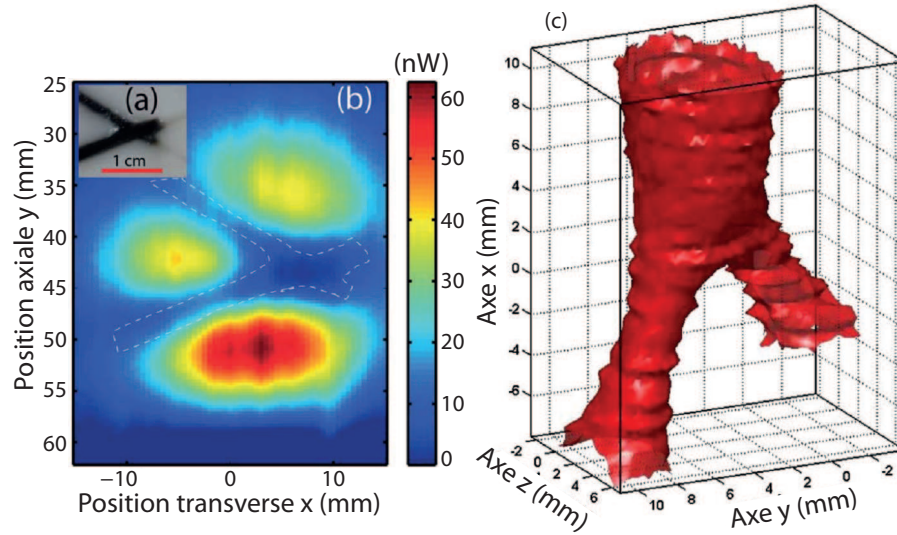
**Holographie photoréfractive en gain négatif** Une autre particularité de notre utilisation de l'holographie photoréfractive est de faire une détection en gain négatif [136]. Si on reprend les équations couplées 3.19 et 3.20, l'intensité du faisceau signal  $I_S$  croît en fonction de  $z$  dans le cas où le gain en mélange à deux ondes  $\gamma$  est positif. Le transfert d'énergie se fait alors de la référence vers le faisceau signal. En revanche, si  $\gamma$  est négatif, le transfert d'énergie se fait de l'onde signal vers l'onde de référence. En pratique, si la configuration de mélange à deux ondes se trouve en gain positif, il suffit de retourner le cristal, c'est-à-dire d'inverser les faces d'entrée et de sortie pour passer en gain négatif. L'intérêt est de limiter la lumière parasite qui arrive sur le détecteur.

En effet, l'utilisation d'un cristal photoréfractif en mélange à deux ondes s'accompagne inévitablement de la coma photoréfractive, mieux connue sous le terme anglo-saxon de "*beam fanning*" [137], illustrée par la figure 3.6. Ce phénomène provient de la diffusion d'un faisceau laser sur les impuretés du cristal. Ce signal diffus est souvent faible mais il est amplifié par transfert d'énergie du faisceau de référence en mélange à deux ondes avec gain positif. En particulier dans un cristal de SPS qui présente un fort gain, le *beam fanning* est important. De plus, ce faisceau diffus amplifié vient se superposer au faisceau signal transmis provoquant parfois la saturation du détecteur car d'après [138], jusqu'à 90% de la référence peut être transférée au signal diffus. La détection en gain négatif permet de s'affranchir de cette amplification du signal diffus par la référence et de réduire le bruit de mesure.



**Figure 3.6** – Observation du phénomène de *beam fanning* (coma photoréfractive) et de bruits dus à la pompe à travers un cristal de SPS:Te. Les trois photographies se suivent dans le temps et montrent bien la mise en place de l'effet ainsi que la diminution de l'intensité du faisceau principal. Photographie tirée de la thèse de S. Farahi [139].

La figure 3.7, tirée de l'article [133] donne un aperçu des performances d'imagerie acousto-optique résolue en temps réalisées avec notre cristal de SPS:Te en configuration de gain négatif. L'échantillon imagé est un gel diffusant ( $l^* = 1 \text{ mm}$ ) de 30 mm d'épaisseur suivant  $z$ , contenant une inclusion absorbante en forme de croix avec des bras de 2 mm de diamètre. Les impulsions ultrasonores ont une durée de  $1 \mu\text{s}$  pour une résolution axiale  $\Delta y = 1,5 \text{ mm}$ . La majorité des résultats expérimentaux obtenus avec ce système de détection sont détaillés dans le chapitre 4.



**Figure 3.7** – Tomographie acousto-optique 3D d'une croix absorbante enfouie dans un gel diffusant de 30 mm d'épaisseur, à  $l^* = 1$  mm, publiée dans [133]. (a) Photographie du gel coupé perpendiculairement à l'axe  $z$  de propagation de la lumière; (b) Image d'un plan  $xy$  à l'intérieur du gel tirée des données 3D, le tracé blanc pointillé identifie la position de la croix; (c) Image acousto-optique 3D de la croix, les bras de la croix font 2 mm de diamètre.

Lors de nos expériences d'imagerie acousto-optique avec le SPS, nous avons remarqué un phénomène étonnant. Alors que la photodiode détecte un signal acousto-optique, si la référence est supprimée, un signal persiste, de plus faible amplitude. Dans la section suivante, nous nous intéressons à ce phénomène sur cristal de BSO, où il est plus important et nous présentons les résultats expérimentaux d'imagerie acousto-optique auto-référencée.

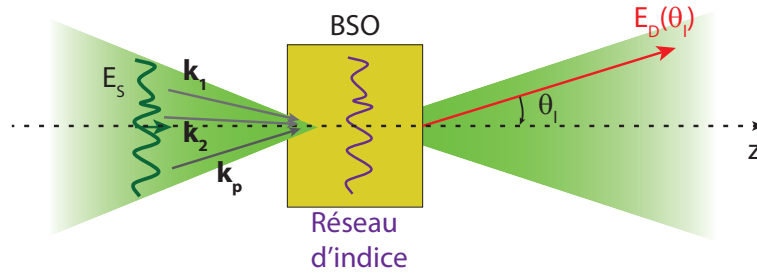
### 3.3 Holographie photoréfractive auto-référencée dans un cristal de BSO

Quel que soit le support d'enregistrement de l'hologramme, l'holographie se fonde sur l'interférence entre une onde signal et une onde de référence. Cependant, avec un cristal photoréfractif, il est possible d'inscrire un hologramme sans faisceau de référence. Cette propriété a été découverte dans les années 1990 par Stepanov et al. pour le cristal de BSO [140]. Kamshilin et al. ont utilisé cette propriété pour réaliser un filtre de corrélation adaptatif avec un cristal de  $Bi_{12}TiO_{20}$  (BTO) permettant de suivre les vibrations d'un interféromètre à fibres multimodes [141]. Il s'agit de la transposition au champ speckle de l'application de filtres de corrélation adaptatifs photoréfractifs, basée sur l'holographie photoréfractive standard entre ondes planes, déjà bien connue pour effectuer, par exemple, des tâches industrielles de tri d'objets par reconnaissance de forme [142]. L'absence de référence implique une configuration de détection simplifiée puisque le positionnement du cristal est moins contraignant et la lumière parasite pouvant atteindre le détecteur est réduite. Il nous a donc paru intéressant d'appliquer cette détection par holographie auto-référencée à l'imagerie acousto-optique. Ce travail a été réalisé en collaboration avec Stefania Residori et Umberto Bortolozzo de l'Institut Non Linéaire de Nice. Bien que l'holographie auto-référencée soit faisable avec un cristal de SPS, nous utilisons ici un cristal de BSO, connu pour sa grande photoconductivité. Par conséquent, l'illumination est dans le vert (532 nm).

### 3.3.1 Création de l'hologramme auto-référencé

En nous référant aux articles de Kamshilin et al. [141, 143], nous avons d'abord cherché à comprendre l'holographie photoréfractive auto-référencée comme le résultat de l'interférence entre le champ speckle objet et le *beam fanning*. Selon ce point de vue, l'onde objet qui arrive sur le cristal photoréfractif est diffusée par les inhomogénéités, situées en surface ou en profondeur dans le matériau, dans une large fenêtre angulaire. Les ondes diffusées interfèrent alors avec l'onde incidente, inscrivant une multitude de réseaux d'indice dans le cristal par effet photoréfractif. L'onde incidente est diffractée par ces réseaux et permet un transfert d'énergie vers les ondes diffusées qui ont participé à la formation des réseaux.

Dans les expériences réalisées par Kamshilin et al., un cristal de BTO soumis à un champ électrique externe est utilisé ce qui laisse supposer un fort gain photoréfractif et donc un niveau de *beam fanning* considérable. Cependant, lorsque le gain photoréfractif est plus faible, le champ diffusé par *beam fanning* est négligeable devant le champ transmis. En l'occurrence, le *beam fanning* n'est pas remarquable visuellement à la sortie du cristal de BSO que nous utilisons. Nous souhaitons donc proposer ici un autre modèle pour expliquer l'holographie photoréfractive auto-référencée qui ne fait pas intervenir le *beam fanning*.



**Figure 3.8** – Schéma de principe de création de l'hologramme auto-référencé à partir des multiples composantes ondes planes de vecteurs  $\mathbf{k}_l$  du champ objet  $E_S$ .  $E_D(\theta_l)$  est le champ diffracté dans la direction de détection  $\theta_l$ .

Le champ objet  $E_S$  en entrée du cristal de BSO est un speckle qui peut être considéré comme un ensemble de sources ponctuelles, émettant des ondes planes d'amplitudes aléatoires  $a_l$  et de vecteurs d'onde  $\mathbf{k}_l$  ( $l = 1..N$ ), susceptibles d'interférer entre elles. L'angle entre un vecteur  $\mathbf{k}_l$  et l'axe  $z$  est noté  $\theta_l$  (voir schéma 3.8).

$$E_S = \sum_l a_l e^{-i\mathbf{k}_l \cdot \mathbf{r}} \quad (3.37)$$

Une onde plane de vecteur  $\mathbf{k}_l$  peut interférer avec toutes les autres ondes planes de vecteur  $\mathbf{k}_p$  avec  $p \neq l$ , donnant lieu à la superposition de plusieurs réseaux d'indice de réfraction dans le cristal photoréfractif. Pour chacun de ces réseaux, la variation d'indice est proportionnelle au taux de modulation des interférences. Ainsi, la variation d'indice  $n_1(\theta_l)$  vue par une onde plane se propageant dans la direction  $\theta_l$  s'écrit :

$$n_1(\theta_l) = \frac{1}{\sum_p |a_p|^2} \sum_{p \neq l} A(\theta_l - \theta_p) a_l e^{-i\mathbf{k}_l \cdot \mathbf{r}} a_p^* e^{i\mathbf{k}_p \cdot \mathbf{r}} \quad (3.38)$$

où  $A(\theta_l - \theta_p)$  est un coefficient qui dépend de l'angle entre les deux ondes planes qui interfèrent puisque, lors du mélange à deux ondes, le pas du réseau d'indice créé ainsi que les coefficients électro-optiques du matériau qui entrent en jeu varient en fonction de cet angle.

Lorsque l'efficacité de diffraction  $\eta_d$  est faible, ce qui est le cas à faible éclaircissement et pour des petites épaisseurs de cristal traversées, elle peut être linéarisée de sorte que :  $\eta_d = e^{\Gamma L} - 1 \simeq \Gamma L$ . Dans le cas du cristal de BSO, ses coefficients électro-optiques faibles participent à diminuer l'efficacité de diffraction. Le champ diffracté  $E_D$ , donné par le deuxième terme de l'expression 3.33, devient alors proportionnel à la variation d'indice.

$$\begin{aligned}
E_D(\theta_l) &= C L n_1(\theta_l) E_S \\
&= C L \frac{a_l e^{-i\mathbf{k}_l \cdot \mathbf{r}}}{\sum_p |a_p|^2} \sum_{p \neq l} A(\theta_l - \theta_p) a_p^* e^{i\mathbf{k}_p \cdot \mathbf{r}} \sum_m a_m e^{-i\mathbf{k}_m \cdot \mathbf{r}} \\
&= C L \frac{a_l e^{-i\mathbf{k}_l \cdot \mathbf{r}}}{\sum_p |a_p|^2} \left[ \sum_{p \neq l} A(\theta_l - \theta_p) |a_p|^2 + \sum_p \sum_{m \neq p} A(\theta_l - \theta_p) a_m a_p^* e^{-i(\mathbf{k}_m - \mathbf{k}_p) \cdot \mathbf{r}} \right] \quad (3.39)
\end{aligned}$$

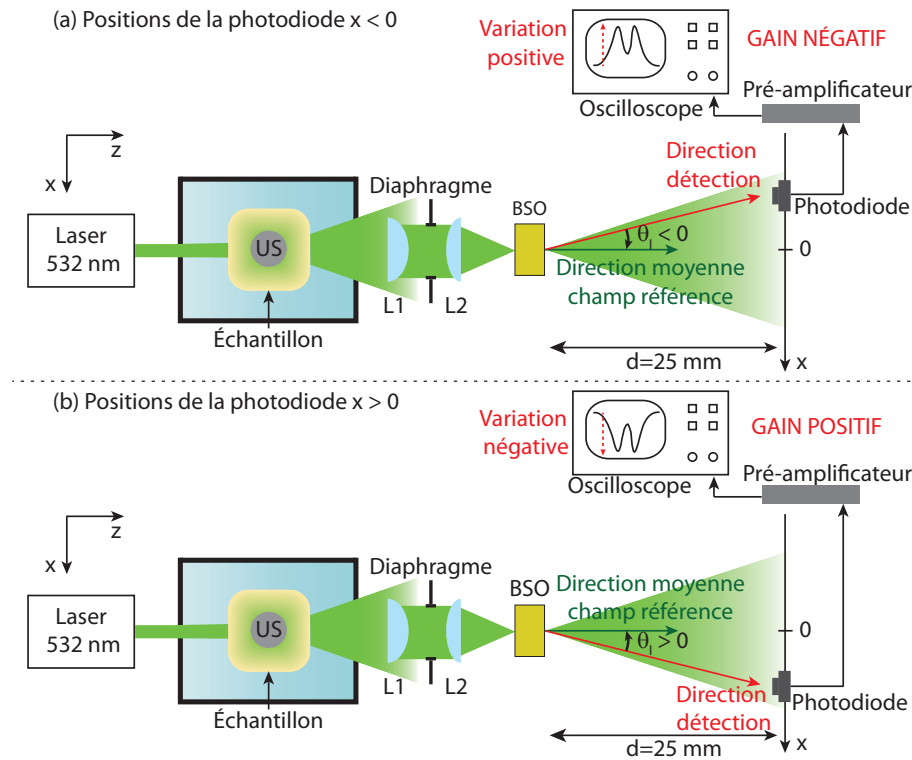
où  $C$  est une constante de proportionnalité et  $L$  est l'épaisseur du cristal dans la direction  $z$ . Le deuxième terme dans le crochet correspond à la diffraction de l'onde plane de vecteur  $\mathbf{k}_p$  sur le réseau formé par les deux ondes planes de vecteurs  $\mathbf{k}_l$  et  $\mathbf{k}_m$  avec  $m \neq p$ . Cette situation ne satisfait pas la condition de Bragg et par conséquent, la somme des termes croisés est nulle. Finalement, l'expression 3.39 devient :

$$E_D(\theta_l) = C L \frac{a_l e^{-i\mathbf{k}_l \cdot \mathbf{r}}}{\sum_p |a_p|^2} \sum_{p \neq l} A(\theta_l - \theta_p) |a_p|^2 \quad (3.40)$$

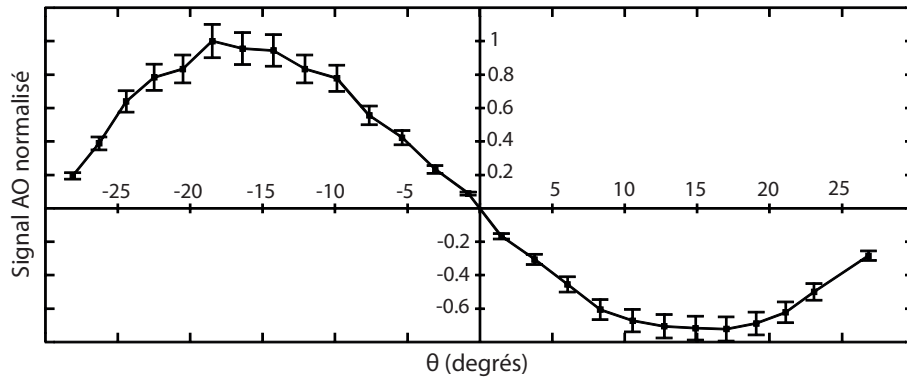
Ainsi, pour une direction d'incidence donnée, donc pour un angle de détection fixe, le champ diffracté total est la somme des champs diffractés sur chacun des réseaux d'indice créé par l'illumination d'un couple donné de sources ponctuelles. Ce champ diffracté est susceptible de s'ajouter à la part du faisceau objet transmise dans cette direction. Ce résultat est comparable au cas de l'holographie photoréfractive avec une référence fixe sauf qu'il faut considérer une distribution angulaire de références. Le couplage entre le champ transmis et le champ diffracté est traduit par la somme des coefficients  $A(\theta_l - \theta_p)$ . En fonction du signe de  $(\theta_l - \theta_p)$ , par diffraction sur chaque réseau, le champ dans la direction de détection  $\theta_l$  est soit amplifié, soit diminué. Pour une direction de détection considérée, la répartition entre les contributions de mélanges à deux ondes en gain négatif et en gain positif varie. Par conséquent, le niveau de signal détecté dépend de la position du capteur.

Nous avons mesuré la variation du niveau de signal acousto-optique en fonction de la position de la photodiode selon un axe  $x$ , à  $d = 25 \text{ mm}$  du cristal afin de choisir une position du détecteur qui maximise le signal lors de nos expériences d'imagerie acousto-optique. La configuration expérimentale de mesure est schématisée sur la figure 3.9 et les résultats sont présentés sur la figure 3.10. Le changement de signe du signal de part et d'autre de la position  $x = 0$  de la photodiode témoigne d'un changement de signe du gain total  $\sum_{p \neq l} A(\theta_l - \theta_p)$  accumulé par diffraction sur chacun des réseaux associé à un couple d'ondes planes donné. Dans le cas du mélange à deux ondes classique avec référence, le signe du gain photoréfractif  $\gamma$  dépend de la position du faisceau de référence par rapport au faisceau signal. Ici interviennent une multitude de références au lieu d'une référence unique, présentant une orientation moyenne selon l'axe  $z$ . Lorsque la photodiode est à des abscisses négatives, l'angle orienté entre le champ objet et le champ référence  $\theta_l$  est négatif et la variation de signal détectée est positive. Le gain est alors négatif (même cas de figure que la détection par holographie photoréfractive standard sur cristal de SPS évoquée en section 3.2.3). À l'inverse, pour les positions  $x$  positives de la photodiode, l'angle orienté  $\theta_l$  entre le champ

objet détecté et le champ référence est positif. Le gain est donc positif ce qui se traduit par une variation du signal mesurée négative. Pour la position  $x = 0$ , la variation de signal est nulle ce qui est logique étant donné que la quantité de mélange à deux ondes en gain positif est égale à celle en gain négatif.



**Figure 3.9** – Schéma du montage dédié à la mesure de la dépendance du signal auto-référencé avec la position du détecteur. (a) La photodiode est en  $x < 0$ , le gain photoréfractif est négatif ; (b) La photodiode est en  $x > 0$ , le gain photoréfractif est positif.

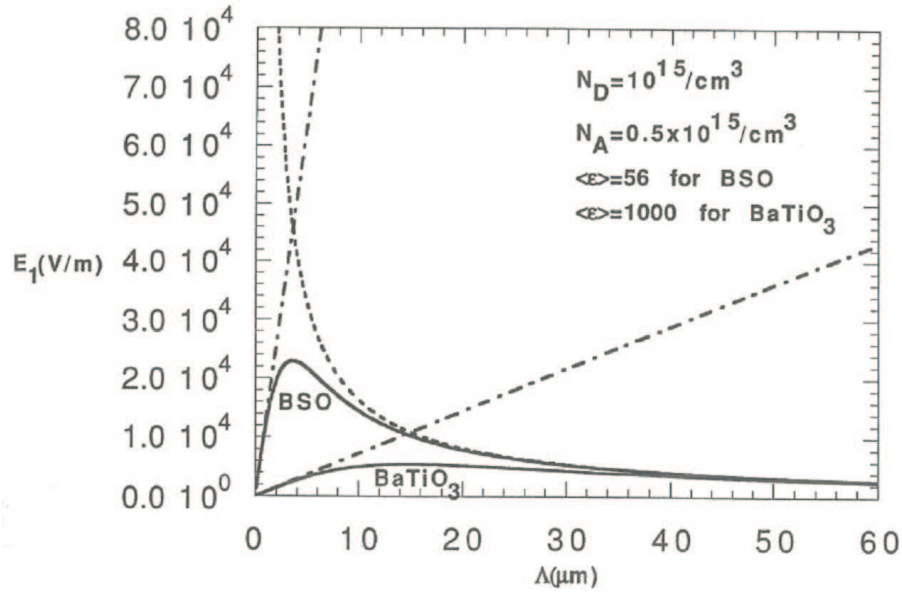


**Figure 3.10** – Variation du signal acousto-optique en fonction de la position de la photodiode selon l'axe  $x$ . Résultat publié dans [144].

La figure 3.10 met bien en évidence une direction optimale de détection en  $\theta_l \simeq 15^\circ$ . Cet angle correspond à un pas du réseau d'indice  $\Lambda \simeq 1,5 \mu m$ , ce qui est proche de la longueur de Debye du BSO. Il apparaît que l'optimisation de la détection consiste à cibler la contribution du réseau à plus grande variation d'indice, lui-même créé par le champ de charge d'espace maximum, atteint pour  $\Lambda = \Lambda_D$ . Les courbes décrivant la variation du champ de charge d'espace en fonction de  $\Lambda$  telles que celles de la figure 3.11, tirée du livre de P. Yeh [119], rappellent la courbe expérimentale 3.10. L'allure de ces courbes est semblable pour des petits angles, mais pour de plus grands angles, le signal sur la figure 3.10 décroît trop rapidement. Cet écart peut s'expliquer par une transmission



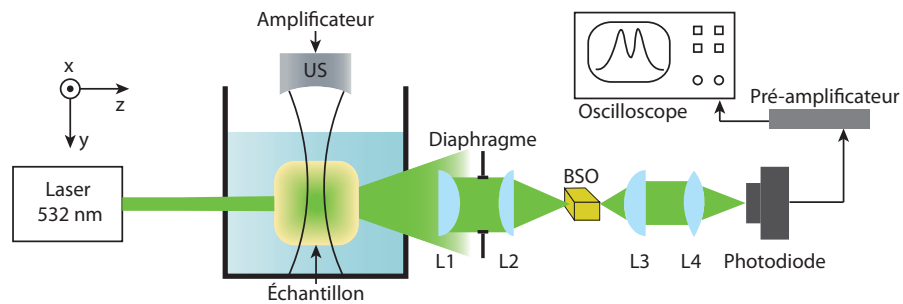
tronquée de la lumière sur les bords en raison de la taille des faces du cristal ou par une longueur d'interaction réduite dans le cristal pour les grands angles.



**Figure 3.11** – Amplitude du champ de charge d'espace  $E_1$  en fonction de la période  $\Lambda$  du réseau d'indice pour le  $BaTiO_3$  et le BSO, tirée du livre de P. Yeh [119].

### 3.3.2 Filtre de corrélation pour les photons marqués

L'holographie auto-référencée présente un intérêt certain pour l'imagerie acousto-optique car l'absence de référence permet un montage de détection plus compact, sans risque de lumière parasite sur le capteur.



**Figure 3.12** – Schéma du montage d'imagerie acousto-optique en détection par holographie photoréfractive auto-référencée. US repère le transducteur ultrasonore, BSO est le cristal photoréfractif, L1-L4 sont des lentilles de grande ouverture numérique.

Le montage expérimental d'imagerie acousto-optique par holographie auto-référencée sur cristal de BSO est schématisé sur la figure 3.12. L'échantillon diffusant est immergé dans une cuve d'eau pour l'adaptation d'impédance avec le transducteur ultrasonore et reçoit un éclairage de  $2 \text{ W.cm}^{-2}$  à  $532 \text{ nm}$ , fourni par un laser monomode pouvant fonctionner à  $5 \text{ W}$  de puissance maximale (*Coherent SA Verdi*). Le champ speckle en sortie de l'échantillon est collecté au mieux dans le cristal de BSO (*Sillenite.com Ltd*) grâce à deux lentilles de grande ouverture numérique. Le cristal mesure  $10 \text{ mm}$  d'épaisseur selon l'axe  $z$  et présente une section de  $20 \times 10 \text{ mm}^2$ . En sortie du cristal, deux lentilles de grande ouverture numérique sont à nouveau utilisées pour maximiser le flux collecté par la photodiode *Thorlabs PDA-36A*. Le signal détecté par la photodiode est amplifié

par un pré-amplificateur *Femto* à gain variable (10 à 60 dB) dont la bande passante vaut 10 MHz. Le transducteur ultrasonore *Panametrics A395S*, de distance focale 78 mm et de diamètre 38 mm, excité par un amplificateur de puissance 10 W (*EADS*) envoie une onde acoustique à 2,3 MHz, sous forme d'impulsions de quelques microsecondes pour réaliser de l'IAORT.

Lorsque le transducteur ultrasonore est éteint, l'hologramme statique du champ speckle diffusé par l'échantillon  $E_1(x, y)$  est enregistré dans le cristal de BSO sous forme d'un réseau d'indice, par holographie auto-référencée, décrite en 3.3.1. En utilisant la théorie du "faisceau entier" (*whole-beam method*), Daniel et al. ont démontré que cette structure diffractante enregistrée agit comme un filtre de corrélation sur tout champ transmis [145]. Quand l'échantillon est parcouru par une onde acoustique, le champ speckle en sortie de l'échantillon  $E_2(x, y)$  est légèrement modifié et présente une variation  $\Delta E(x, y)$  par rapport au speckle initial sans ultrasons.

$$E_2(x, y) = m_1 E_1(x, y) + \Delta E(x, y) \quad (3.41)$$

où le coefficient  $m_1$  traduit une diminution potentielle de l'amplitude du speckle initial. Comme décrit dans l'article [141] où un tel filtre de corrélation est appliqué à la détection de vibrations de fibres multimodes, le flux détecté  $I_S$  fait apparaître le produit de corrélation entre les deux speckles avant et après insonification.

$$I_S \propto e^{\gamma L} \left[ (1 + m_1^2) I_0 - 2 m_1 \Re \left( \int \int_S E_1(x, y) E_2^*(x, y) dx dy \right) \right] \quad (3.42)$$

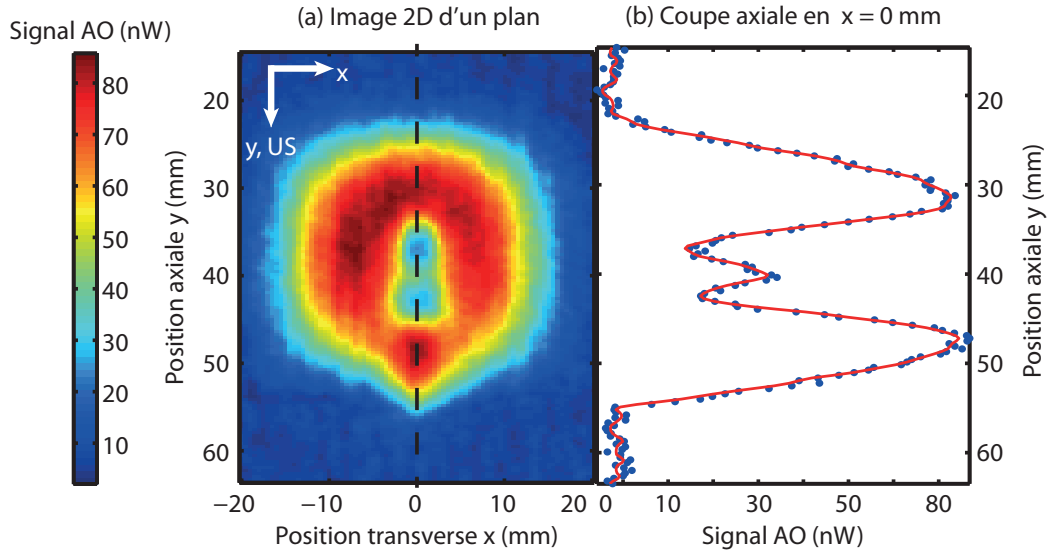
où  $I_0$  est le flux total arrivant sur le cristal et  $S$  est la surface du détecteur.

En conséquence, en absence d'ultrasons, comme le signal objet arrivant sur l'hologramme est parfaitement adapté en phase, le produit de corrélation est maximum, tout comme le signal détecté par la photodiode. En revanche, quand les ultrasons parcourent le milieu, le speckle objet varie trop rapidement pour enregistrer un nouvel hologramme dans le cristal et il est donc moins bien corrélé à l'hologramme existant. Par suite, le signal détecté par la photodiode diminue. Cette sensibilité du montage à la variation du speckle en fait une technique adaptée à la détection du signal acousto-optique. L'holographie photoréfractive auto-référencée équivaut finalement à l'holographie photoréfractive standard avec une démultiplication des références et des mélanges à deux ondes.

### 3.3.3 Résultat expérimental

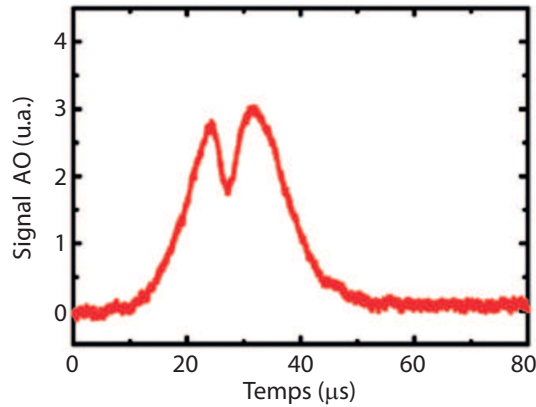
Pour tester le potentiel de la détection par holographie photoréfractive auto-référencée pour l'imagerie acousto-optique, nous avons placé un gel diffusant composé d'agar et d'Intralipide 10% contenant deux inclusions absorbantes dans le montage décrit sur la figure 3.12 [144]. Le gel fait 40 mm d'épaisseur dans la direction  $z$  et possède un libre parcours moyen de transport approximatif de 1 mm. Les absorbeurs sont cylindriques, de dimensions  $3 \times 3 \times 5 \text{ mm}^3$  (dans les directions respectives  $x, y, z$ ), séparés de 2,5 mm bord à bord. Un transducteur mono-élément émet l'onde acoustique par impulsions de 4 cycles à 2,3 MHz, toutes les 100  $\mu s$ , ce qui garantit une résolution axiale de 2,6 mm. La figure 3.13(a) montre l'image acousto-optique obtenue d'un plan  $xy$  intersectant les deux inclusions après 128 moyennages soit 14 ms d'acquisition par ligne. Cette image, ainsi que la coupe axiale au niveau des inclusions 3.13(b), révèlent nettement la présence des absorbeurs avec un contraste de 80%.





**Figure 3.13** – (a) Image acousto-optique en détection par holographie photoréfractive auto-référencée de deux inclusions de  $3 \times 3 \times 5 \text{ mm}^3$ , séparées de  $2,5 \text{ mm}$ , à travers une épaisseur optique de  $40 l^*$  de gel diffusant; (b) Coupe axiale de l'image en  $x = 0 \text{ mm}$ . Résultat publié dans [144].

Sur le profil axial 3.13(b), le rapport signal à bruit vaut 30 ce qui est comparable à la qualité d'image obtenue en holographie photoréfractive standard avec référence. Par exemple, le profil acousto-optique 3.14 obtenu par Lai et al. en holographie photoréfractive standard sur cristal de BSO soumis à un champ électrique externe présente un rapport signal à bruit graphiquement estimé à 20, pour un échantillon de  $60 \text{ mm}$  d'épaisseur, à  $l^* \simeq 1 \text{ mm}$ , avec 10 cycles ultrasonores et un gain photoréfractif élevé [75].



**Figure 3.14** – Profil axial acousto-optique en détection par holographie photoréfractive standard sur cristal de BSO, tiré de [75]. L'échantillon est un "fantôme" diffusant présentant une épaisseur optique de  $60 l^*$  contenant une inclusion absorbante de  $3 \times 3 \times 3 \text{ mm}^3$ .

Une limitation de l'holographie auto-référencée réside dans le faible éclaircissement du cristal lié à l'absence de référence. L'image 3.13(a) a été réalisée avec un éclaircissement de  $900 \mu\text{W.cm}^{-2}$  sur le cristal de BSO, ce qui implique un temps d'établissement de l'effet photoréfractif long, mesuré à  $200 \text{ ms}$  [134]. Cette détection est donc trop lente pour envisager de l'imagerie *in vivo* où le temps de décorrélation du speckle est de l'ordre de la milliseconde. Cependant, le principe de l'holographie auto-référencée devrait également fonctionner avec d'autres types de matériaux non linéaires, aux temps de réponse plus courts, ce qui permettrait d'imager le vivant. Au sein de notre équipe, Baptiste Jayet étudie notamment les cristaux à gain tels que le  $\text{Nd:YVO}_4$ , qui peut atteindre un temps de réponse de  $100 \mu\text{s}$  [74].

## 3.4 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons démontré le potentiel de l'holographie photoréfractive pour la détection du signal acousto-optique. L'holographie auto-référencée offre une solution robuste et compacte de détection, mais telle que nous l'avons réalisée, avec le cristal de BSO, elle reste trop lente pour les applications d'imagerie *in vivo*. Sans entrer dans des considérations d'autres matériaux non linéaires, il semble incontournable d'utiliser un faisceau de pompe qui permet d'augmenter l'intensité arrivant sur le cristal et de réduire le temps de réponse. L'image en trois dimensions de la croix absorbante cachée dans un gel diffusant de la figure 3.7(b) a été obtenue en concaténant une série d'images en deux dimensions, dont chacune requiert un temps de mesure de 2,5 minutes [133], pour un temps total de l'ordre de l'heure. La vitesse d'imagerie est ici limitée par l'acquisition des données, effectuée avec un oscilloscope relié à l'ordinateur, car le balayage de l'échantillon par les ultrasons nécessite seulement quelques minutes. La qualité et la résolution de l'image sont bonnes, la longueur d'onde utilisée est idéale pour traverser les tissus biologiques, mais le temps de mesure doit être amélioré en vue d'applications médicales.

Une piste d'amélioration abordée dans le chapitre suivant est de remplacer l'oscilloscope par une carte d'acquisition. Cet équipement apporte un gain en temps et en capacité de moyennage du signal. De plus, pour réaliser des images acousto-optiques en limitant les mouvements du système, il est pratique d'utiliser des sondes ultrasonores multi-éléments. Ainsi une image d'un plan  $xy$  orthogonal à la direction de propagation de la lumière est réalisée sans aucun déplacement mécanique puisque l'axe  $y$  est parcouru par l'impulsion ultrasonore et l'axe  $x$  est parcouru en focalisant les ultrasons successivement au-dessous de chaque élément de la sonde. Par ailleurs, l'association de l'imagerie acousto-optique à une barrette ultrasonore pousse à faire de l'imagerie bimodale, c'est-à-dire proposer, pour un même échantillon, une image de ses propriétés optiques d'absorption et de diffusion et une image de ses propriétés mécaniques par échographie. En utilisant les échographes Aixplorer<sup>®</sup> programmables disponibles au laboratoire, nous avons réalisé un tel système d'imagerie bimodale que nous présenterons dans le chapitre suivant à travers plusieurs cas concrets d'applications.

---

Imagerie bimodale des tissus pour le diagnostic et le suivi thérapeutique

---



---

**Table des matières**


---

4.1	Couplage de l'échographe Aixplorer <sup>®</sup> avec l'imagerie acousto-optique par holographie photoréfractive . . . . .	<b>78</b>
4.1.1	Échographe Aixplorer <sup>®</sup> de Supersonic Imagine . . . . .	79
4.1.2	Association avec l'imagerie acousto-optique sur cristal de SPS . . . . .	81
4.1.3	Intérêt du couplage . . . . .	83
4.2	Imagerie <i>ex vivo</i> de tissus cancéreux . . . . .	<b>84</b>
4.2.1	Carcinomes ectopiques du côlon chez la souris . . . . .	84
4.2.2	Biopsies de foie humain avec mélanomes . . . . .	89
4.3	Suivi de thérapie ultrasonore par imagerie acousto-optique . . . . .	<b>95</b>
4.3.1	Contraste optique de lésions thermiques créées par HIFU . . . . .	96
4.3.2	Suivi de la création de lésions thermiques par profil acousto-optique . . . . .	98
4.3.3	Vers un suivi en deux dimensions de la création de lésions thermiques . . . . .	101
4.4	Conclusion . . . . .	<b>102</b>

---

Le diagnostic et le traitement précoces des maladies comme le cancer, est un enjeu majeur de la médecine actuelle. Cependant, plus le diagnostic est anticipé, plus il est incertain car l'expression de la maladie peut rester discrète chez le patient. Par conséquent, les médecins multiplient les analyses et les examens pour identifier la maladie et la localiser avec précision. Par exemple, dans le cas du dépistage du cancer du sein, l'examen de référence est la mammographie. Si des tissus anormaux sont détectés, une échographie est généralement prescrite et elle peut être encore complétée par un examen d'IRM (Imagerie par Résonance Magnétique) ou une biopsie. Cette succession d'examens médicaux prend du temps et constitue une cause de stress pour le patient qui est constamment en attente d'un nouveau résultat sur sa pathologie. La tendance est donc à l'imagerie mutli-modale qui consiste à regrouper sur un même appareil plusieurs techniques d'imagerie.

L'imagerie acousto-optique se combine facilement à l'échographie standard dans la mesure où elle implique l'existence d'une source acoustique. De plus, elle apporte une information de contraste optique résolue spatialement et en profondeur dans les tissus, ce qui n'a encore jamais été réalisé cliniquement, de manière non invasive. Pourtant, les espèces chimiques présentes dans les tissus telles que la mélanine, l'hémoglobine, etc. ont des signatures optiques singulières qui permettent de les différencier et d'accéder aux informations physiologiques [146]. De même, les propriétés optiques d'une tumeur la distinguent de son environnement. L'information optique participe donc à approfondir la connaissance des tissus.

Généralement utilisés pour le diagnostic à travers l'échographie, les ultrasons servent également en thérapie. En effet, des ultrasons de grande intensité focalisés (HIFU pour l'anglais *High Intensity Focused Ultrasound*) dans les tissus provoquent un échauffement localisé permettant une destruction cellulaire contrôlée. À nouveau, l'intervention des ultrasons dans cette procédure facilite la mise en place de l'imagerie acousto-optique comme outil de suivi de la thérapie.

Ce chapitre décrit le module d'imagerie bimodale de laboratoire réalisé en couplant un échographe Aixplorer® de la société Supersonic Imagine avec le montage d'IAORT en détection par holographie photoréfractive sur cristal de SPS. Deux applications d'imagerie de tumeurs du colon chez la souris *ex vivo* et de biopsies de foie humain démontrent ensuite la complémentarité des informations optique et acoustique. Enfin, un autre couplage ultrasons/lumière est étudié : le suivi de l'ultrasonothérapie par imagerie acousto-optique.

## 4.1 Couplage de l'échographe Aixplorer® avec l'imagerie acousto-optique par holographie photoréfractive

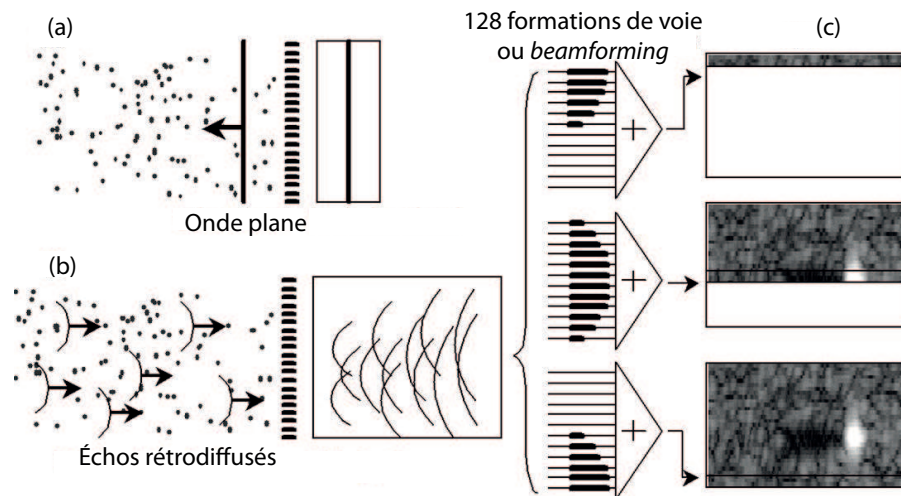
L'échographie est une pratique médicale largement répandue depuis les années 1970, où elle a connu un grand succès en obstétrique. Cette technique d'imagerie est sensible aux contrastes d'impédance acoustique et révèle les propriétés mécaniques des tissus. L'échographie consiste à envoyer une onde acoustique focalisée grâce à une barrette de transducteurs piézo-électriques et d'enregistrer, avec cette même barrette, les "échos" provenant des interfaces entre deux régions d'impédances acoustiques différentes dans le milieu. Le temps écoulé entre l'envoi de l'onde et

la réception d'un signal et la connaissance de la vitesse de propagation des ultrasons permettent d'obtenir une cartographie qualitative de l'impédance acoustique du milieu.

Aucune modification majeure du système échographique n'est nécessaire pour réaliser simultanément une image acousto-optique et cumuler ainsi les cartographies des propriétés optiques et mécaniques du milieu. Ce couplage a déjà fait ses preuves pour l'imagerie de "fantômes" diffusants en permettant de différencier par leur réponse optique, deux objets indiscernables à l'échographie [147]. Les progrès de l'imagerie acousto-optique depuis ce premier essai d'imagerie bimodale optique/acoustique en 2005 nous ont motivés à retenter l'expérience sur des tissus biologiques, dans l'objectif de convaincre la communauté médicale de l'intérêt de l'information acousto-optique. De plus, notre environnement de travail est favorable à cette expérience puisque la collaboration de l'Institut Langevin avec la société Supersonic Imagine nous permet de disposer d'échographes programmables aux fonctionnalités multiples.

#### 4.1.1 Échographe Aixplorer® de Supersonic Imagine

La société Supersonic Imagine, fondée en 2005, développe des échographes innovants, baptisés Aixplorer®, qui proposent différentes modalités d'imagerie ultrasonore. L'innovation se fonde sur une technique d'imagerie ultra-rapide développée dans notre laboratoire [148] permettant non seulement d'accroître la vitesse d'un échographe classique de 25 images par seconde à 30000, mais aussi de faire de l'élastographie, pour quantifier l'élasticité des tissus, ou de l'imagerie Doppler pour analyser les flux sanguins.



**Figure 4.1** – Principe de l'imagerie ultra-rapide par ultrasons, tiré de [148]. (a) La sonde échographique insonifie le milieu avec une onde plane. (b) Le signal rétrodiffusé par le milieu est enregistré par la même sonde. (c) En réception, l'image est reconstruite en appliquant différentes lois de retards sur les éléments et en sommant en amplitude les signaux obtenus. Contrairement à l'échographie classique, chaque ligne de l'image est calculée à partir d'un même jeu de données en modifiant la loi de retards.

**Imagerie ultra-rapide : Ultrafast™ Imaging** Pour augmenter la vitesse de l'échographie, l'idée est de remplacer l'émission focalisée d'ultrasons par une insonification par ondes planes. En effet, l'émission focalisée mobilise plusieurs éléments consécutifs de la barrette échographique pour sonder une seule ligne de l'échantillon, ce qui nécessite l'acquisition d'une centaine de lignes pour construire une image à deux dimensions. En revanche, avec une onde plane, un plan entier du milieu est parcouru par les ultrasons en un tir d'émission. Les signaux rétrodiffusés provenant

de toute la section de l'échantillon sont enregistrés et traités numériquement. La parallélisation des calculs sur ordinateur permet d'atteindre des cadences d'imagerie de 20 kHz. Ce principe d'imagerie ultra-rapide est schématisé sur la figure 4.1.

L'augmentation de la cadence d'imagerie se fait au détriment de la qualité d'image en matière de résolution, contraste et profondeur de sensibilité. Il est cependant possible de gagner en rapport signal à bruit en envoyant plusieurs ondes planes attaquant le milieu avec des angles différents, ce qui revient à une focalisation virtuelle en émission. Cette méthode est appelée "*compound* ultrasonore spatial cohérent" car les images réalisées pour chaque angle sont sommées de manière cohérente, sur les amplitudes.

**Élastographie ShearWave<sup>TM</sup> (SWE<sup>TM</sup>)** L'élastographie est une mesure des propriétés visco-élastiques des tissus. Il s'agit d'un équivalent quantitatif de la palpation médicale, qui a déjà fait ses preuves dans la détection de tumeurs du sein [149] ou l'évaluation de la fibrose du foie [150]. L'élasticité des tissus est généralement caractérisée par le module de Young  $E$ , tel que  $E = \sigma/\varepsilon$ , où  $\sigma$  est la contrainte mécanique appliquée et  $\varepsilon$  est la déformation. Cependant, elle peut aussi être décrite par les coefficients de compression  $K$  et de cisaillement  $\mu$ , qui sont les indicateurs respectifs de la réponse du milieu aux ondes de compression et de cisaillement (voir schéma 4.2). Le module de compression étant relativement uniforme pour tout type de tissus ( $\approx 10^9 Pa$ ), il est préférable de s'appuyer sur l'étude du module de cisaillement pour différencier les tissus et les pathologies car il est fortement hétérogène et varie entre  $10^2$  et  $10^7 Pa$ .

Lorsque  $K \gg \mu$ , les modules de Young et de cisaillement sont proportionnels,  $E = 3\mu$ . Ainsi la mesure de  $\mu$ , qui passe par la connaissance de la densité des tissus  $\rho$  et de la vitesse de propagation de l'onde de cisaillement  $v_s$ , donne directement accès à  $E$ . L'élastographie consiste donc à mesurer la vitesse des ondes de cisaillement, ce qui nécessite une acquisition rapide d'une succession d'images afin d'analyser le mouvement de ces ondes dans le milieu. Le développement de la technique ultra-rapide permet d'imager de manière dynamique, avec une onde de compression rapide ( $1500 m.s^{-1}$ ), la propagation d'une onde de cisaillement, plus lente ( $v_s = 1$  à  $10 m.s^{-1}$ ) [151].

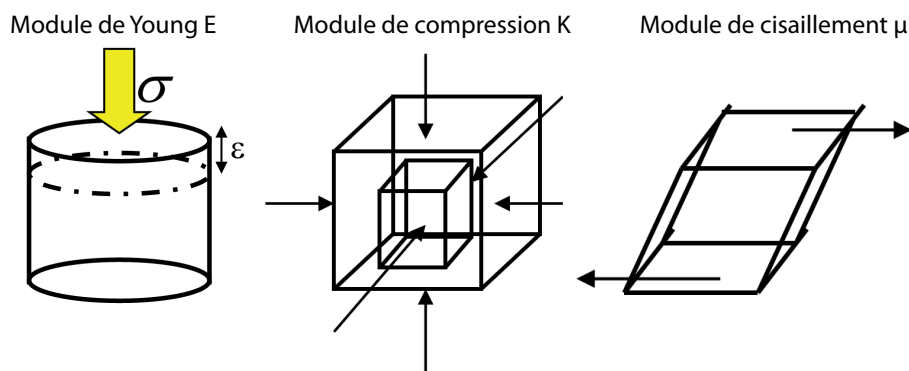


Figure 4.2 – Modules associés à l'élasticité des tissus.

La technique initiée par Sarvazyan et al. [152] pour générer des ondes de cisaillement est de focaliser une onde acoustique à une profondeur donnée, pendant un certain temps de l'ordre de 10 à 100  $\mu s$ , et d'utiliser la force de radiation ainsi créée comme source localisée et temporaire d'ondes de cisaillement. Bercoff et al. ont augmenté l'amplitude de l'onde de cisaillement générée à distance en déplaçant axialement le point de focalisation de la poussée ultrasonore à une vitesse, dite supersonique, c'est-à-dire supérieure à celle de l'onde de cisaillement [153]. Par interférences



constructives entre les ondes de cisaillement successivement créées, la propagation se fait plus en profondeur et la fenêtre de mesure élastographique est agrandie. Cette technique est le fondement de l'élastographie ShearWave™ proposée par Supersonic Imagine. Dans le cas du diagnostic du cancer du sein, une étude réalisée sur 939 patients a montré que la fonction élastographie permet d'améliorer la spécificité de l'échographie d'environ 10%, c'est-à-dire de diminuer le nombre de faux positifs détectés [154].

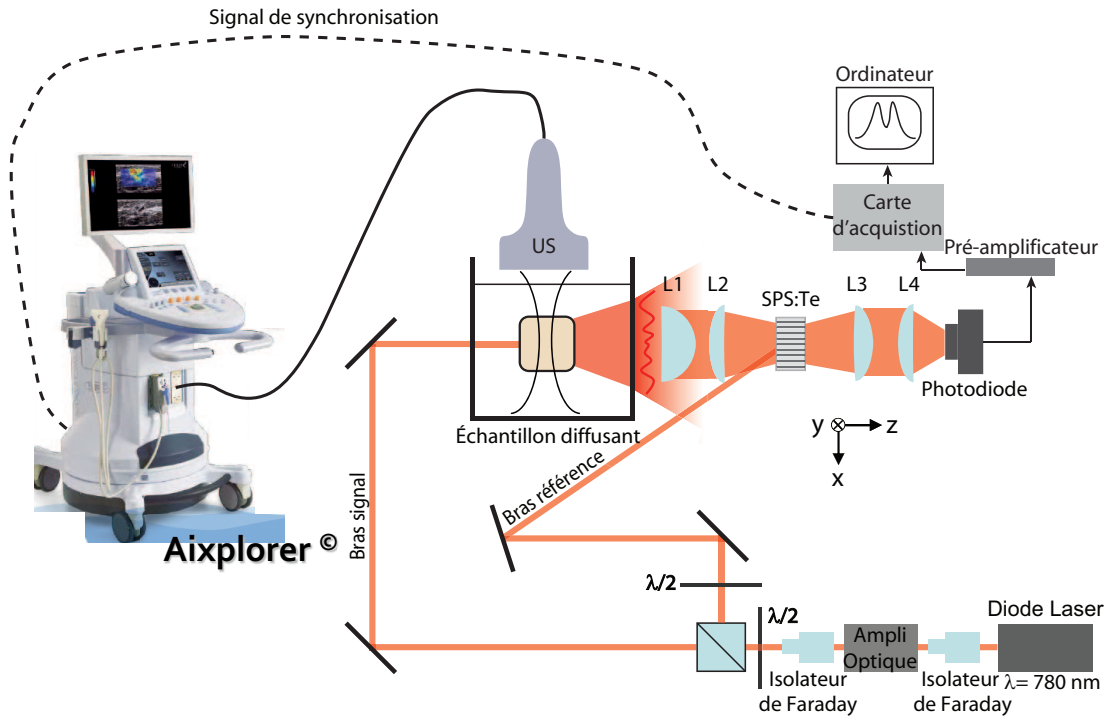
**Doppler Ultrafast™** En augmentant la cadence des images, la technique Ultrafast™ Imaging améliore la sensibilité de l'imagerie de flux sanguins d'un facteur 100. En 2011, Macé et al. ont démontré la possibilité de suivre l'évolution du flux sanguin dans un cerveau de rat avec une résolution spatiale de  $100 \times 100 \mu m^2$  et temporelle de 200 ms [155]. Certains vaisseaux de petite taille encore jamais imagés avec l'échographie Doppler traditionnelle ont pu être observés. En outre, le déclenchement et la propagation d'une activité épileptique dans toute la profondeur du cerveau du rat ont été visualisés à haute résolution pour la première fois.

L'Aixplorer® est donc un appareil d'imagerie multimodale à part entière, capable de révéler les propriétés mécaniques des tissus et de réaliser une imagerie sensible des flux sanguins. Doter cet appareil d'une modalité de mesure acousto-optique supplémentaire pourrait aider à la caractérisation des tissus et potentiellement améliorer le diagnostic. De plus la capacité de l'optique à différencier les espèces chimiques en fonction de leur réponse spectrale permet d'espérer une détection plus précoce des tumeurs cancéreuses. Toutefois, pour proposer l'imagerie acousto-optique comme outil de diagnostic clinique, il est nécessaire de la rendre plus rapide. Dans le paragraphe suivant, nous présenterons les modifications apportées au montage d'imagerie acousto-optique en détection par holographie photoréfractive sur cristal de SPS décrit au chapitre 3 ainsi que notre méthode d'utilisation de l'Aixplorer® pour le marquage acousto-optique.

#### 4.1.2 Association avec l'imagerie acousto-optique sur cristal de SPS

Pour réaliser de l'imagerie bimodale ultrasonore et optique, il suffit de substituer une sonde échographique compatible avec un Aixplorer® au transducteur mono-élément utilisé initialement en imagerie acousto-optique. Sur les appareils Aixplorer® de Supersonic Imagine, la technique d'imagerie ultra-rapide par ondes planes est utilisée pour l'élastographie et le Doppler mais pas pour l'échographie B-mode standard qui s'appuie classiquement sur une émission et une réception focalisées par ligne. Ce mode de fonctionnement de l'échographie est adaptée à l'IAORT qui image également ligne par ligne sur la durée de propagation de l'onde ultrasonore. Cependant, nous souhaitons contrôler le nombre de moyennages par ligne, donc le nombre d'émissions acoustiques, pour obtenir un rapport signal à bruit suffisant sur la mesure acousto-optique ainsi que le temps de l'impulsion ultrasonore afin de fixer la résolution axiale d'imagerie optique. En conséquence, au lieu d'utiliser uniquement l'interface utilisateur dédiée à la pratique clinique, nous contrôlons à distance l'Aixplorer® par ordinateur. De plus, au niveau de la détection du signal optique et de son enregistrement, nous avons décidé de remplacer l'oscilloscope par une carte d'acquisition pour gagner en sensibilité et en rapidité. Cette carte étant directement connectée à l'ordinateur par BUS PCI, elle offre par ailleurs une plus grande autonomie de contrôle informatique que l'oscilloscope. Le montage expérimental est schématisé sur la figure 4.3.





**Figure 4.3** – Montage expérimental du système d'imagerie bimodale ultrasonore/acousto-optique. Le schéma donne une vue de dessus du montage optique sauf pour la cuve qui est représentée vue de côté pour une meilleure visualisation. Les ultrasons se propagent selon l'axe  $y$ .

**Séquence ultrasonore et synchronisation** L'utilisation de l'Aixplorer® laisse davantage de liberté sur le choix de la fréquence des ultrasons par rapport au transducteur mono-élément, dont la bande passante est généralement assez étroite (moins d'1 MHz). Pour les images de tumeurs chez la souris et de biopsies de foie humain présentées par la suite, la sonde utilisée fonctionne entre 4 et 15 MHz et possède 256 éléments. Pour commander l'Aixplorer® via Matlab, Supersonic Imagine met à notre disposition une librairie de fonctions de base pour définir la séquence ultrasonore à l'émission et à la réception. En imagerie acousto-optique, l'étape de réception ultrasonore est inutile et la séquence appelée en émission permet la focalisation en une position sous le transducteur à renseigner par l'utilisateur. Les autres paramètres ajustables sont l'ouverture de la sonde, qui définit le nombre d'éléments piézoélectriques participant à la formation de faisceau, la fréquence ultrasonore, le nombre de cycles de l'impulsion acoustique, la tension et l'intensité régissant la puissance acoustique émise, le nombre de répétitions et leur cadence.

À chaque émission ultrasonore, le signal acousto-optique temporel détecté par la photodiode peut être converti en information spatiale à condition de connaître le point de départ des ultrasons. Par conséquent, il est primordial de disposer d'un signal de synchronisation au niveau de l'appareil échographique indiquant le coup d'envoi d'une onde ultrasonore par la sonde.

Avant l'acquisition d'une image acousto-optique, nous pouvons également enregistrer l'image échographique et la carte d'élasticité de l'échantillon directement sur l'Aixplorer®. La visualisation de l'image B-mode en temps réel est pratique pour régler la position du transducteur et mesurer la taille de la zone à sonder.

**Acquisition du signal acousto-optique** L'utilisation d'un oscilloscope n'est pas appropriée à l'acquisition d'une grande quantité de données car sa mémoire est limitée (2500 points pour le Tektronix TDS2024B que nous utilisons). Ainsi, lors de la détection des signaux acousto-optiques, qui sont faibles et nécessitent quelques centaines de moyennages, la mémoire doit être vidée à

répétition. La durée de cette procédure totalise le temps de communication entre l'ordinateur et l'oscilloscope pour ordonner l'enregistrement et le temps de transfert des données vers l'ordinateur. En remplacement de l'oscilloscope, la carte d'acquisition que nous avons choisie offre une mémoire de 512 MB répartie sur 4 voies. Il s'agit du modèle *PCI-9846* de la marque *ADLINK*. Sa fréquence d'échantillonnage maximale est de 40 MHz et correspond également à sa fréquence usuelle d'utilisation pour échantillonner convenablement les signaux acousto-optiques induits par une onde acoustique autour de 8 MHz.

L'acquisition est effectuée en mode de déclenchement multiple c'est-à-dire que les signaux enregistrés après chaque coup de synchronisation sont concaténés et conservés en mémoire jusqu'à atteindre un nombre de déclenchements prédéfini. Le nombre de points acquis par déclenchement est lui aussi choisi au préalable par l'utilisateur. Pour moyenner le signal acousto-optique sur l'ensemble de ces déclenchements, il suffit de découper l'enregistrement et d'en sommer les segments résultants. Ainsi, en espaçant les émissions ultrasonores de  $50 \mu s$  pour permettre à l'impulsion acoustique de parcourir toute la hauteur de l'échantillon, et en commandant 256 déclenchements, le signal acousto-optique est enregistré en 13 ms.

Un autre avantage important de la carte d'acquisition est de gagner en sensibilité. En effet, la carte offre un échantillonnage en tension de 16 bits, contre 8 bits sur l'oscilloscope, pour une dynamique de  $\pm 0,2 V$  ou  $\pm 1 V$ . Cette carte est donc capable de détecter des signaux de quelques  $\mu V$  seulement, alors que le calibre minimum de l'oscilloscope vaut  $2 mV/division$ .

La mise en œuvre de ce système combinant échographie, élastographie et imagerie acousto-optique est née d'une motivation commune et d'une entraide entre Jean-Luc Gennisson de l'Institut Langevin et notre équipe. Avant d'utiliser ce combiné multi-modal pour imager des tissus cancéreux, nous allons le mettre à l'épreuve sur un gel diffusant aux propriétés connues.

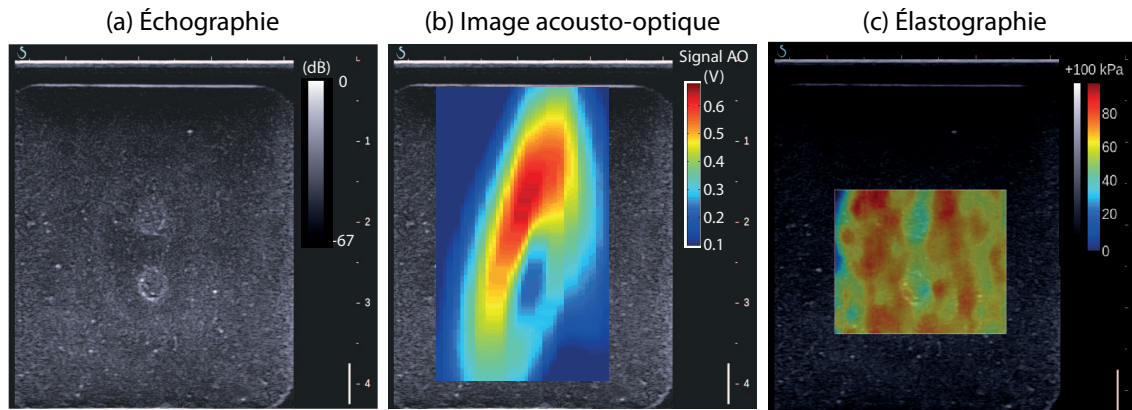
### 4.1.3 Intérêt du couplage

Le gel test est conçu à partir d'agar et d'Intralipide 10% pour avoir une épaisseur de 3 cm et un libre parcours moyen de transport  $l^* \simeq 1 mm$ . Il contient deux inclusions cylindriques de taille  $3 \times 3 \times 5 mm^3$ , respectivement selon  $x$ ,  $y$  et  $z$  (voir orientation des axes sur le schéma 4.3). Pour réaliser ces inclusions, on laisse prendre le gel autour de deux tiges qui y creusent des trous. Ces orifices sont ensuite remplis avec le même mélange d'agar et Intralipide auquel on ajoute éventuellement de l'encre de Chine pour le rendre absorbant. Pour le test, nous avons réalisé une inclusion de même constitution que le cœur du gel et ajouté de l'encre pour l'autre inclusion qui présente donc un contraste optique par rapport au reste du gel diffusant. Les propriétés mécaniques sont relativement uniformes dans le gel sauf aux interfaces entre les inclusions et le "fantôme".

Les figures 4.4(a) et 4.4(c) montrent que l'échographie et l'élastographie sont incapables de faire une distinction entre les deux inclusions. En revanche, sur l'image acousto-optique 4.4(b), une seule inclusion est visible, en bleu foncé, ce qui signifie qu'elle présente un contraste optique. Il s'agit donc de l'inclusion absorbante. Cette expérience révèle la complémentarité des trois techniques d'imagerie. Ici, l'image acousto-optique seule ne permet pas de savoir que le gel contient deux inclusions mais souligne la particularité d'une inclusion alors que les images ultrasonores localisent bien les deux inclusions sans pouvoir les différencier.

Ce test sur un gel connu a permis de vérifier que l'utilisation de l'Aixplorer® pour le marquage acoustique est bien maîtrisée et surtout, que la multi-modalité est d'un grand intérêt pour l'analyse et la caractérisation du milieu étudié. Le contraste acousto-optique dépend majoritairement des propriétés optiques de l'échantillon mais il varie également en fonction de la réponse du milieu aux ultrasons. En effet, une zone échogène apparaîtra sombre sur une image acousto-optique même si

elle n'est pas spécialement absorbante ou diffusante. Par conséquent, l'imagerie ultrasonore s'avère également utile à l'interprétation des images acousto-optiques.



**Figure 4.4** – Comparaison des modes d'imagerie sur un gel diffusant test contenant une inclusion absorbante et une inclusion identique au reste du gel.

## 4.2 Imagerie *ex vivo* de tissus cancéreux

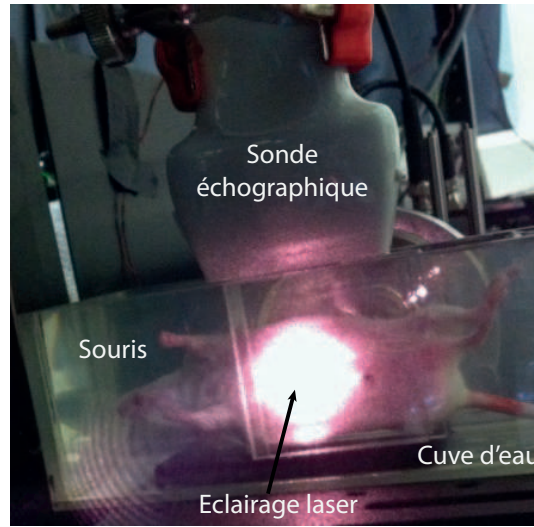
La technique d'imagerie acousto-optique est encore jeune et beaucoup d'expériences de laboratoire sont réalisées sur des "fantômes" qui simulent les propriétés des tissus. Le blanc de poulet est également souvent utilisé comme tissu biologique de référence en y ajoutant des éléments de contraste optique. Pour projeter l'imagerie acousto-optique en application clinique, elle doit d'abord faire ses preuves sur le petit animal et montrer son intérêt dans l'étude de pathologies réelles. En particulier, les tumeurs sont des zones plus absorbantes et entrent en contraste avec les tissus sains qui les entourent en raison d'une forte concentration d'hémoglobine causée par l'angiogénèse [156, 157]. Il nous a donc paru intéressant d'imager par mesure acousto-optique des tissus tumoraux pour voir s'ils présentent des contrastes optiques particuliers.

### 4.2.1 Carcinomes ectopiques du côlon chez la souris

Le cancer colorectal est l'un des cancers les plus fréquents avec plus de 36000 nouveaux cas par an recensés en France par la Ligue Nationale contre le Cancer, et causant 17000 décès par an. Si ce cancer est détecté à temps, la chirurgie permet de le soigner dans 90% des cas. Pour tester de nouvelles techniques de détection ou de traitement moins invasives, la recherche a besoin de modèles animaux tels que le modèle de carcinome<sup>1</sup> du côlon murin CT26. Cette tumeur peut être implantée dans la souris de manière ectopique, c'est-à-dire sur le flanc, ou orthotopique, dans le colon.

Des études ont déjà été menées dans notre laboratoire sur ce type de tumeur injectée à des souris femelles *Balb/c* dans le but de suivre l'évolution de sa taille sur plusieurs jours par imagerie ultrasonore [158]. Après une quinzaine de jours, les souris sont sacrifiées alors que leur tumeur s'étend sur environ 2 cm pour la plus grande dimension. La manipulation des souris et l'injection des tumeurs est assurée par l'équipe de Johanne Seguin de l'Unité de Pharmacologie Chimique et Génétique et d'Imagerie de Chimie ParisTech. Pour réaliser un premier essai d'imagerie acousto-optique sur animal, nous avons utilisé deux souris ainsi sacrifiées.

1. Un carcinome est un cancer développé à partir d'un tissu épithélial comme la peau ou une muqueuse dans le cas du colon.



**Figure 4.5** – Positionnement de la souris dans le montage acousto-optique. Ici la tumeur de la souris n'est pas visible car elle est légèrement dans le dos. Le système de détection en transmission (cristal, détecteur et lentilles) se trouve également derrière la souris.

Pour l'imagerie acousto-optique, la souris est installée sur le flanc, comme on peut le voir sur la photographie 4.5, pour que l'autre flanc, présentant la tumeur soit plus proche de la sonde échographique. Le diamètre du faisceau laser est agrandi avec une lentille pour éclairer l'ensemble de la tumeur et l'image est réalisée en transmission. Les mesures B-mode acousto-optiques et échographiques pour plusieurs positions  $z$  de la barrette selon l'axe de propagation de la lumière sont mises en regard sur les figures 4.7 à 4.11. Chaque figure regroupe l'image échographique (a), l'image acousto-optique (b) et l'image du contraste acousto-optique  $c_{AO}$  (c). Cette dernière image est obtenue en ajustant assez grossièrement l'image acousto-optique avec une enveloppe 2D généralement gaussienne qui représente la répartition de la lumière diffuse incidente sur le plan d'imagerie. À titre d'exemple, l'enveloppe 2D  $env_{2D}(x, y)$  utilisée sur la figure 4.7 est représentée en 4.6. La figure (c) est alors le résultat de la soustraction entre l'enveloppe et le signal acousto-optique  $sig_{AO}$  de la figure (b), cette différence étant ensuite normalisée par l'enveloppe :

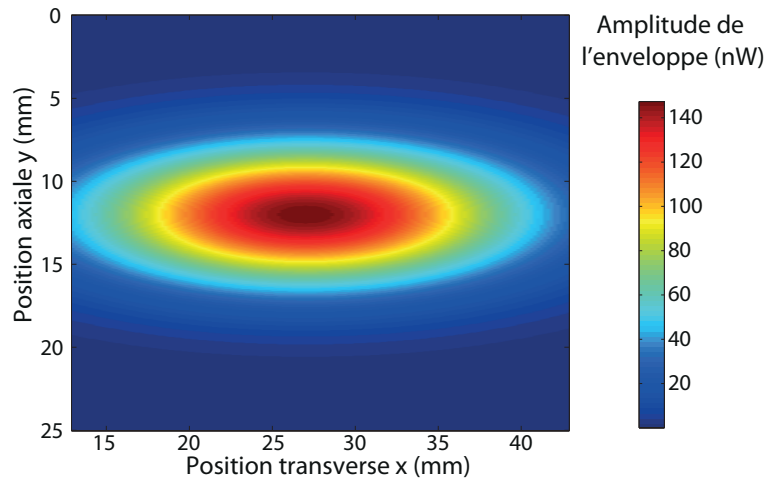
$$c_{AO}(x, y) = \frac{env_{2D} - sig_{AO}}{env_{2D}} \quad (4.1)$$

Il faut cependant rester vigilant sur la confiance accordée aux cartes de contraste (c) car elles dépendent fortement de l'enveloppe utilisée, celle-ci ayant été choisie par ajustement qualitatif des courbes et non par calcul ou simulation. Ainsi pour des échantillons connus et calibrés tels que les gels diffusants ou pour des tissus homogènes comme le blanc de poulet, l'enveloppe et donc la carte de contraste sont relativement fiables ce qui est moins vrai pour l'image des tumeurs de souris.

Rappelons comment comprendre les niveaux de couleur des images acousto-optiques :

- sur la figure (b), les zones rouges correspondent à un maximum de signal acousto-optique. La quantité de photons marqués y est grande essentiellement pour deux raisons : la transmission de l'échantillon est grande dans cette zone et/ou le flux lumineux reçu en entrée dans cette zone est supérieur au reste de l'échantillon.
- sur la figure (c), la soustraction de l'enveloppe de la tache de diffusion permet de révéler une information indépendante de l'éclairement initial. Si on considère que la quantité d'ultrasons est relativement uniforme dans l'échantillon, la figure (c) donne une cartographie du contraste optique. Un contraste faible, dans le bleu, correspond à une zone de bonne transmission de

la lumière alors qu'un contraste fort, dans le rouge, caractérise une zone de forte absorption ou diffusion.

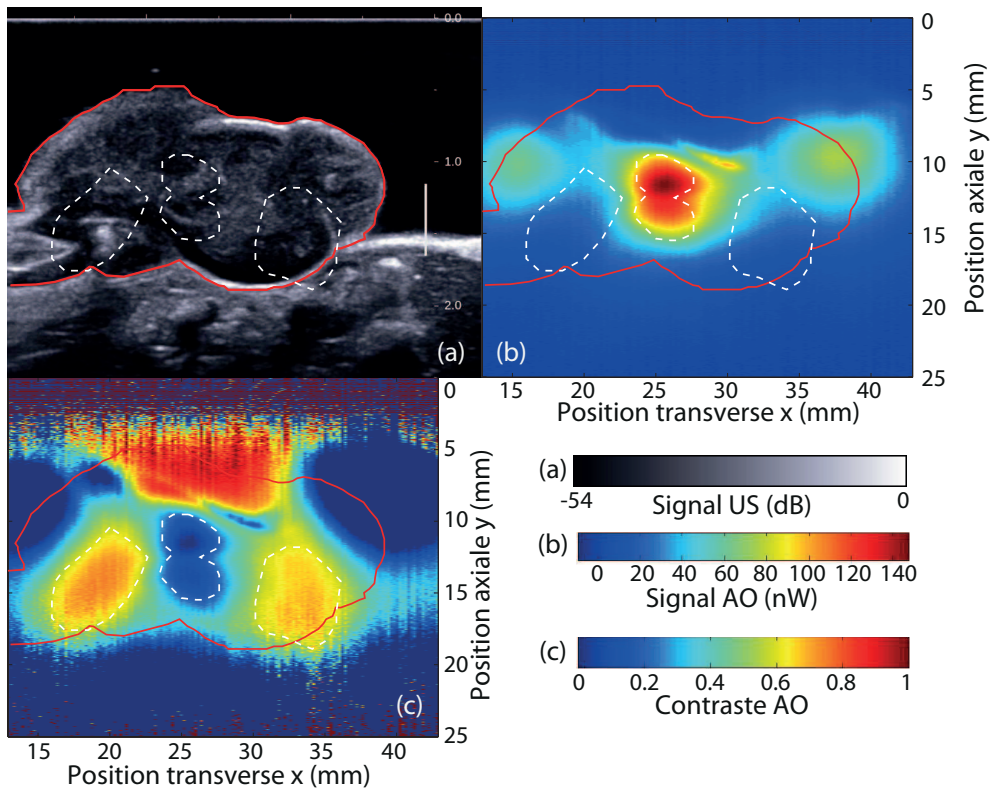


**Figure 4.6** – Exemple d'enveloppe gaussienne utilisée pour obtenir les cartes de contraste acousto-optique, représentant approximativement la tache de diffusion dans le plan d'imagerie.

Dans chaque figure, les trois images sont à la même échelle et nous avons tracé quelques lignes de repère (en rouge et en blanc pointillés) pour aider la comparaison visuelle. En particulier, la ligne rouge, tracée à partir de l'image échographique, suit les contours de la tumeur.

#### Première souris $S_1$

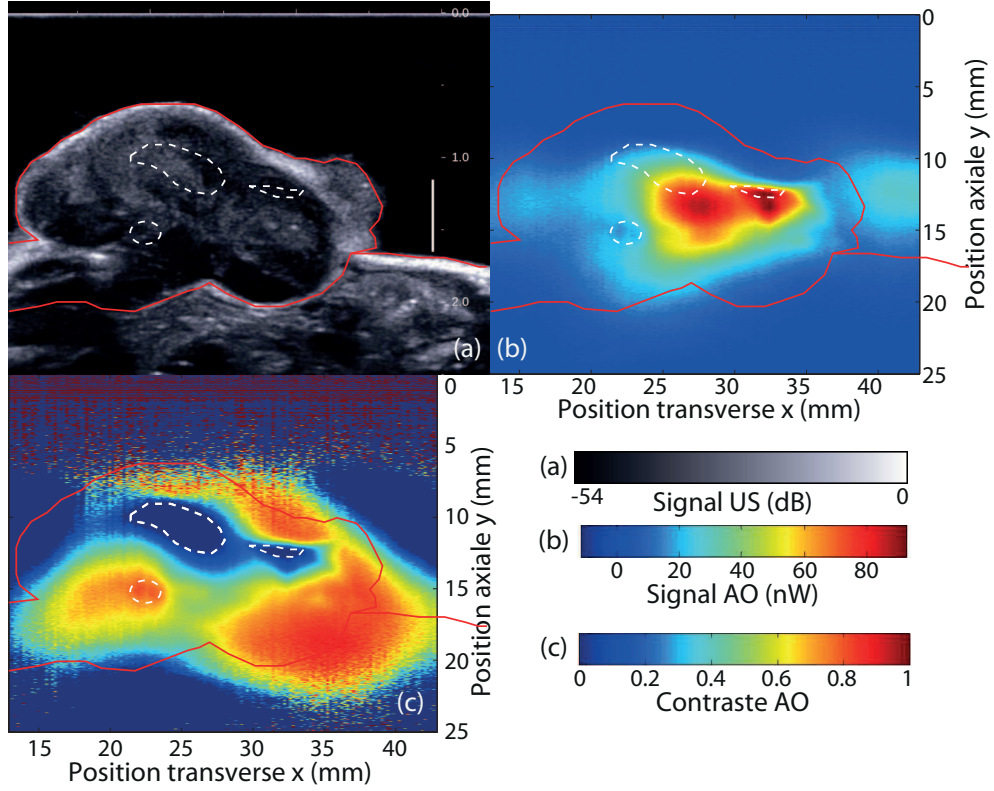
- Plan  $z = z_0$



**Figure 4.7** – Sections acousto-optique et échographique de la souris  $S_1$  en  $z = z_0$ .

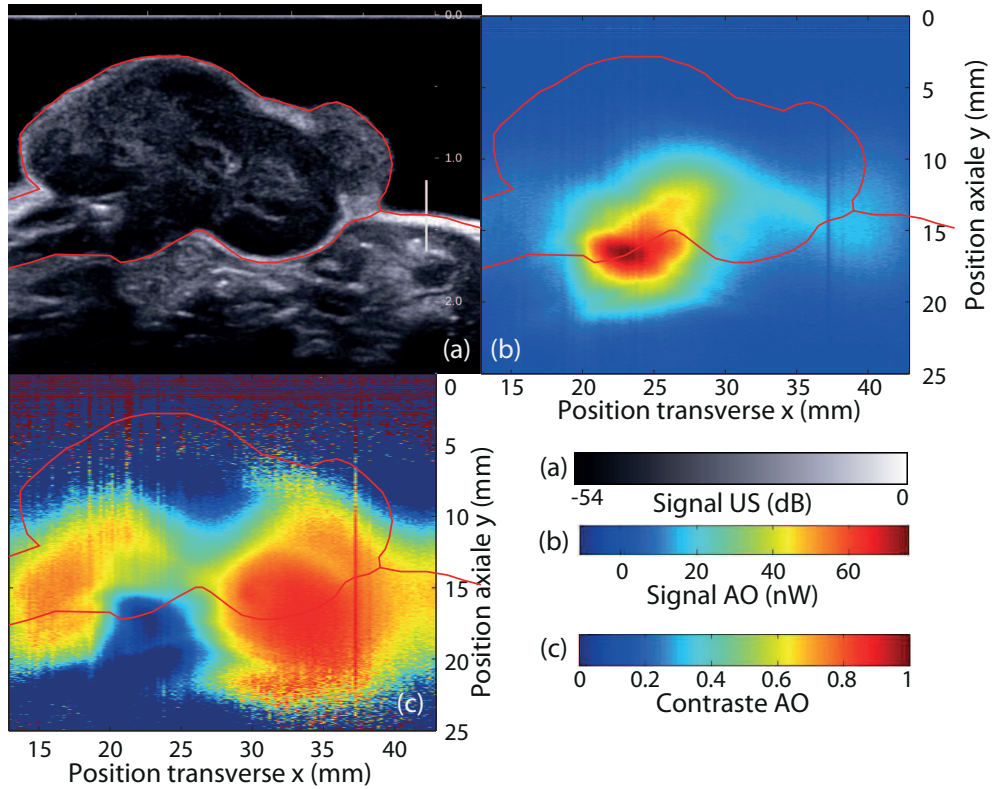


- Plan  $z = z_1$  (à quelques mm du plan  $z = z_0$ ), éclairage centré sur la tumeur



**Figure 4.8** – Sections acousto-optique et échographique de la souris  $S_1$  en  $z = z_1$ , l'éclairage est centré sur la tumeur.

- Plan  $z = z_1$ , éclairage centré sur le bas de la tumeur



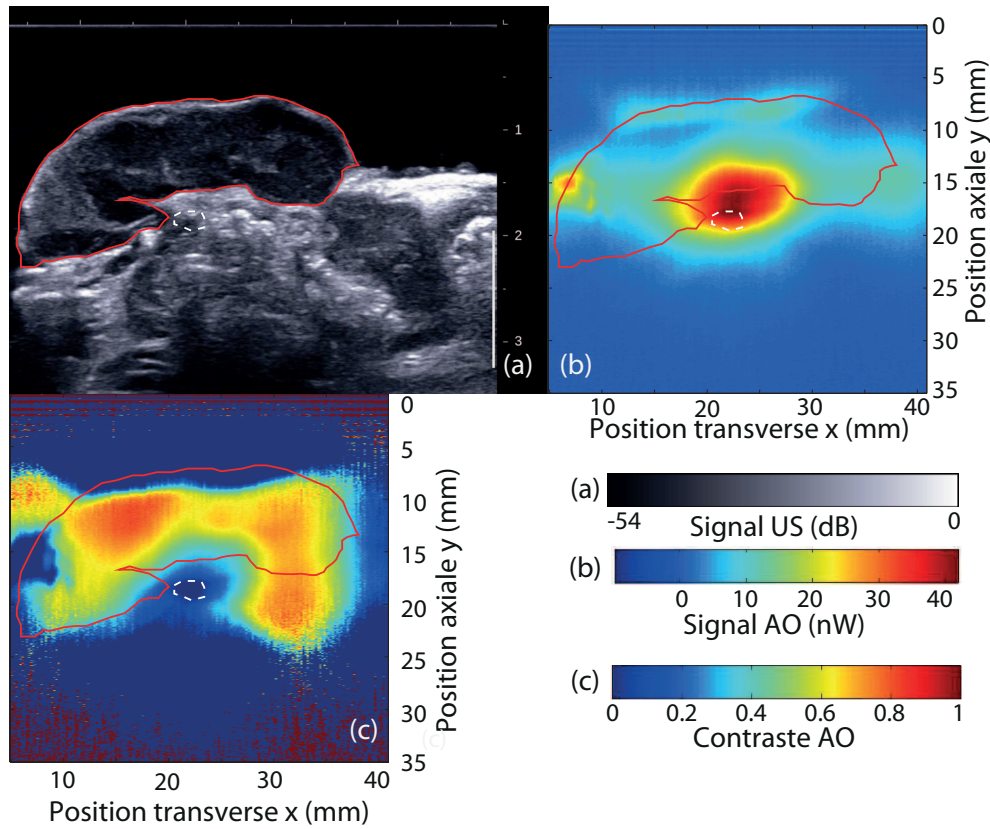
**Figure 4.9** – Sections acousto-optique et échographique de la souris  $S_1$  en  $z = z_1$ , l'éclairage est centré sur le bas de la tumeur.

Les images acousto-optiques ci-dessus ont été obtenues avec un éclairage incident de  $400 \text{ mW.cm}^{-2}$  sur la souris. Les ultrasons sont envoyés à  $8 \text{ MHz}$  par impulsions de  $0,25 \mu\text{s}$  (4 hémicycles). La carte d'acquisition échantillonne à  $40 \text{ MHz}$ , est réglée sur sa sensibilité  $\pm 1 \text{ V}$  et réalise 1000 moyennages par ligne. Grâce au faisceau de référence, le niveau d'éclairage sur le cristal vaut  $1,2 \text{ W.cm}^{-2}$ .

La tumeur apparaît relativement absorbante dans son ensemble hormis certaines zones centrales bien délimitées par les images acousto-optiques mais qui ne présentent pas de spécificité sur l'échographie. La forme de ces zones varie en fonction de la section d'observation et il serait intéressant de visualiser la carte acousto-optique en trois dimensions en multipliant les plans de mesure. Sur les figures 4.8(c) et 4.9(c), la partie inférieure droite de la tumeur semble être une zone très absorbante ce qui pourrait correspondre au point d'ancrage de la tumeur sur le flanc de la souris donc une zone sujette à l'angiogénèse. Sans connaissance médicale, il est difficile d'interpréter davantage ces images mais il est clair que l'information acousto-optique complète bien l'image ultrasonore.

**Deuxième souris  $S_2$**  Pour réaliser les images 4.10 et 4.11, l'éclairage incident sur la souris vaut  $140 \text{ mW.cm}^{-2}$  ( $\leq EMP_{\text{peau},CW}(780 \text{ nm}) = 290 \text{ mW.cm}^{-2}$ , cf. annexe C). Cette valeur est plus faible que pour la souris  $S_1$  car le faisceau objet est plus dilaté. Les ultrasons sont ici aussi à  $8 \text{ MHz}$ , envoyés par impulsions de  $0,25 \mu\text{s}$ . La carte d'acquisition est paramétrée comme pour l'expérience sur la souris  $S_1$  et permet de moyennner 1000 fois par ligne.

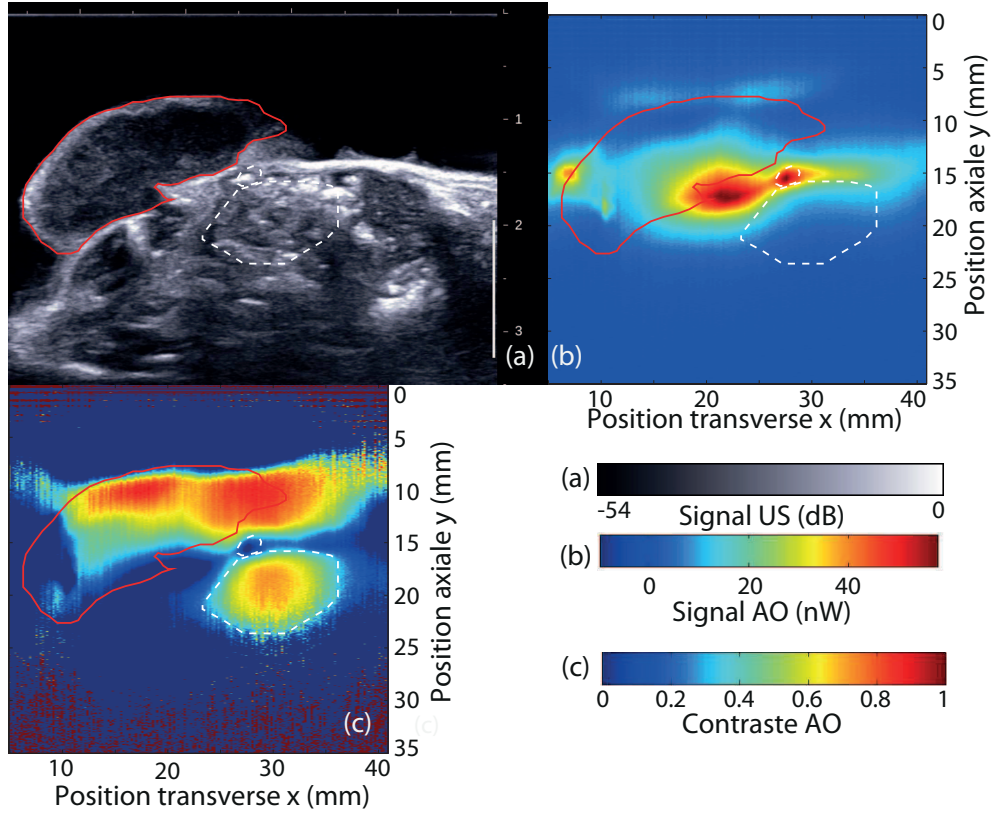
- Plan  $z = z_0$



**Figure 4.10** – Sections acousto-optique et échographique de la souris  $S_2$  en  $z = z_0$ .



- Plan  $z = z_1$  (à 5 mm du plan  $z = z_1$ )



**Figure 4.11** – Sections acousto-optique et échographique de la souris  $S_2$  en  $z = z_1$ .

Pour la souris  $S_2$ , dans le plan  $z = z_0$ , on retrouve une zone absorbante qui s'étend en partie sur la tumeur (en bas à droite) et en partie sur le corps de la souris. Comme pour la souris  $S_1$ , on peut supposer qu'il s'agit de la zone d'ancrage de la tumeur. En revanche, dans le plan  $z = z_1$ , le bord de la tumeur du côté du flanc de la souris n'est plus absorbant. Sur l'échographie, la tumeur apparaît ici plus petite qu'en figure 4.10(a) car la sonde est placée à l'autre extrémité de la tumeur selon l'axe  $z$ . Si la tumeur prend racine en  $z = z_0$ , les connexions sanguines ne sont peut-être pas présentes dans le plan  $z = z_1$ .

Les images acousto-optiques effectuées sur les souris  $S_1$  et  $S_2$  démontrent la présence de contrastes optiques dans la tumeur CT26. Cependant, nous n'avons pas encore l'expérience suffisante pour rattacher ces contrastes optiques à des causes physiologiques ou anatomiques. Pour vérifier qu'ils sont réels et non liés à des artéfacts d'illumination, il aurait été intéressant de découper la tumeur en sections de 1 mm d'épaisseur pour plusieurs cotes  $z$  et de les examiner à la lumière. Remarquons que la souris  $S_2$  a été imagée dans le respect des normes biomédicales optiques, définies en annexe C. De plus, l'utilisation de l'échographe médical Aixplorer® garantit le respect de la norme acoustique en matière de puissance crête maximale mais il reste à vérifier la puissance moyenne qui dépend de la séquence temporelle d'émission ultrasonore programmée sur la sonde.

### 4.2.2 Biopsies de foie humain avec mélanomes

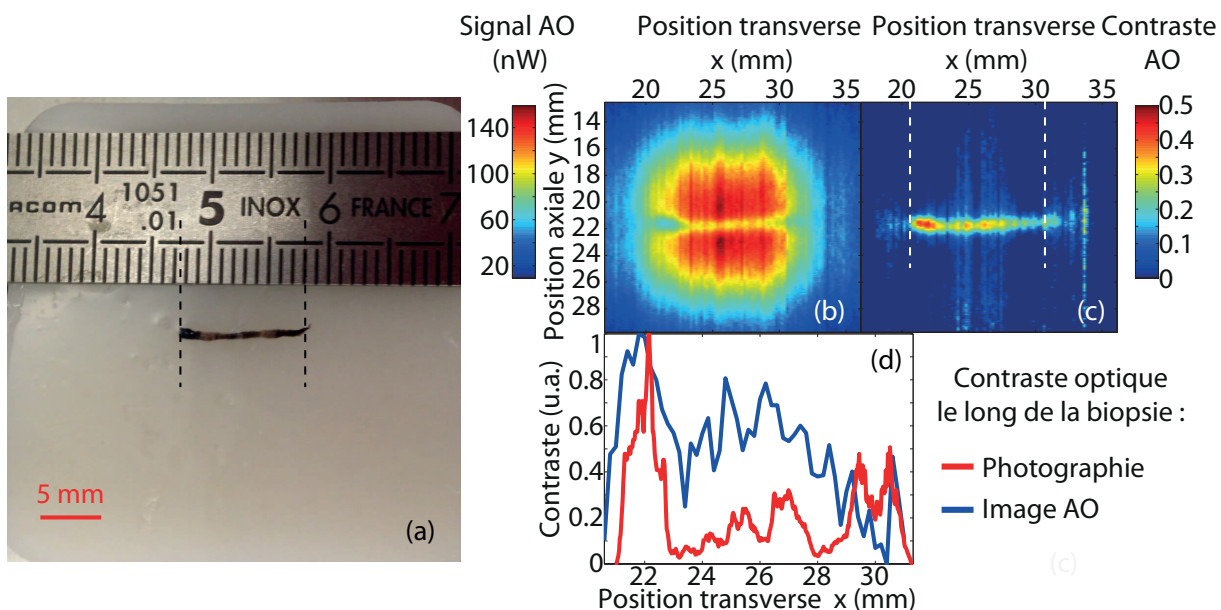
Le mélanome, qui présente un contraste optique bien localisé, est un modèle particulièrement intéressant pour l'imagerie acousto-optique. Il s'agit d'une tumeur précoce ou d'une métastase qui prend une couleur noire en raison d'une accumulation de mélanine. Les traitements non locaux du mélanome tels que la chimiothérapie ou l'immunothérapie sont peu efficaces et malgré l'apparition

de certaines thérapies ciblées qui doivent encore être testées, le meilleur traitement reste l'ablation de la lésion. Pour cibler au mieux la zone à prélever et éviter de toucher les tissus sains, les médecins sont demandeurs d'outils pour affiner leur diagnostic.

Un mélanome peut être cutané ou uvéal, c'est-à-dire localisé dans l'uvée qui est la partie intermédiaire pigmentaire de l'œil. Chez les patients à fort risque clinique ou génétiquement favorables au développement de mélanome uvéal, l'apparition de métastases isolées dans le foie est fréquente. En Europe, il est courant d'examiner le foie de ces patients tous les 6 mois, par échographie. Quand une lésion est détectée, elle doit être formellement diagnostiquée bénigne ou maligne. L'échographie manque parfois de spécificité pour classer la tumeur. Cependant, l'examen échographique est peu coûteux comparé à d'autres méthodes d'imagerie du foie comme les rayons X, ou l'IRM. De plus, il est non ionisant et constitue la seule méthode adoptée mondialement pour l'examen du foie [159, 160]. L'utilisation de l'imagerie acousto-optique en complément de l'échographie peut potentiellement améliorer la sensibilité de détection de petites lésions du foie et préciser leur caractérisation.

Pour en faire la preuve de concept, un projet de collaboration a été lancé entre l'Institut Langevin et l'Institut Curie, impliquant notre équipe, les chercheurs Jean-Luc Gennisson, Mickaël Tanter et le médecin Vincent Servois. Ce projet commence par une étape d'étude pré-clinique pendant laquelle des prélèvements de foie sains ou cancéreux sont analysés dans notre laboratoire. L'objectif est de réaliser ensuite des mesures acousto-optiques *in vivo* sur des patients de l'Institut Curie. Cette étape nécessite de développer un système d'imagerie acousto-optique dans les locaux de l'Institut Curie, qui fonctionne en détection par rétrodiffusion et portatif, ou tout au moins fibré. Pendant la thèse, j'ai participé à la première phase du projet en imageant trois biopsies hépatiques, prélevées par la chirurgienne Pascale Mariani de l'Institut Curie.

**Prélèvement hépatique PH<sub>1</sub>** Le premier échantillon hépatique étudié est une micro-biopsie, prélevée sur le foie d'un patient afin de diagnostiquer l'état métastatique d'une lésion et en déduire le traitement adapté.

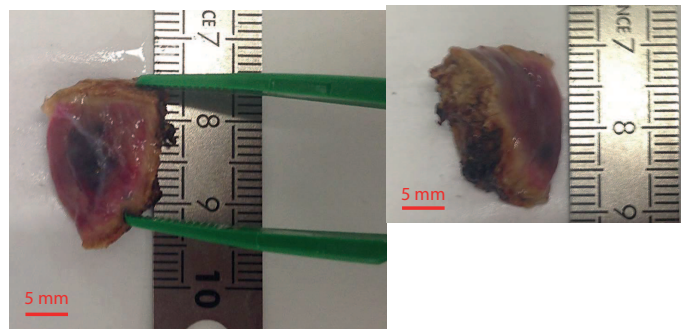


**Figure 4.12** – Prélèvement PH<sub>1</sub>. (a) Photographie, (b) Image acousto-optique, (c) Carte de contraste acousto-optique, (d) Coupe le long de la micro-biopsie entre les traits pointillés sur la photographie (courbe rouge) et sur la carte de contraste acousto-optique (courbe bleue). Pour faciliter la visualisation, les deux coupes sont représentées à une échelle comparable mais arbitraire.

Le prélèvement, de forme cylindrique, a un diamètre très petit ( $\leq 1 \text{ mm}$ ) et mesure 10 à 15 mm de longueur. La micro-biopsie a été prise en photo sur la figure 4.12(a). Elle présente des zones sombres, caractéristiques du mélanome. L'échantillon hépatique est pris dans un gel d'agar et Intralipide 10% pour simuler les propriétés de diffusion des tissus ( $l^* \simeq 1 \text{ mm}$ ). Sur la photographie, on voit la biopsie prise dans la première moitié de gel et on la recouvre ensuite d'une deuxième moitié de gel, de sorte qu'elle ne soit plus visible à travers ce milieu diffusant. Le gel fait 2 cm d'épaisseur dans l'axe de propagation de la lumière ( $z$ ).

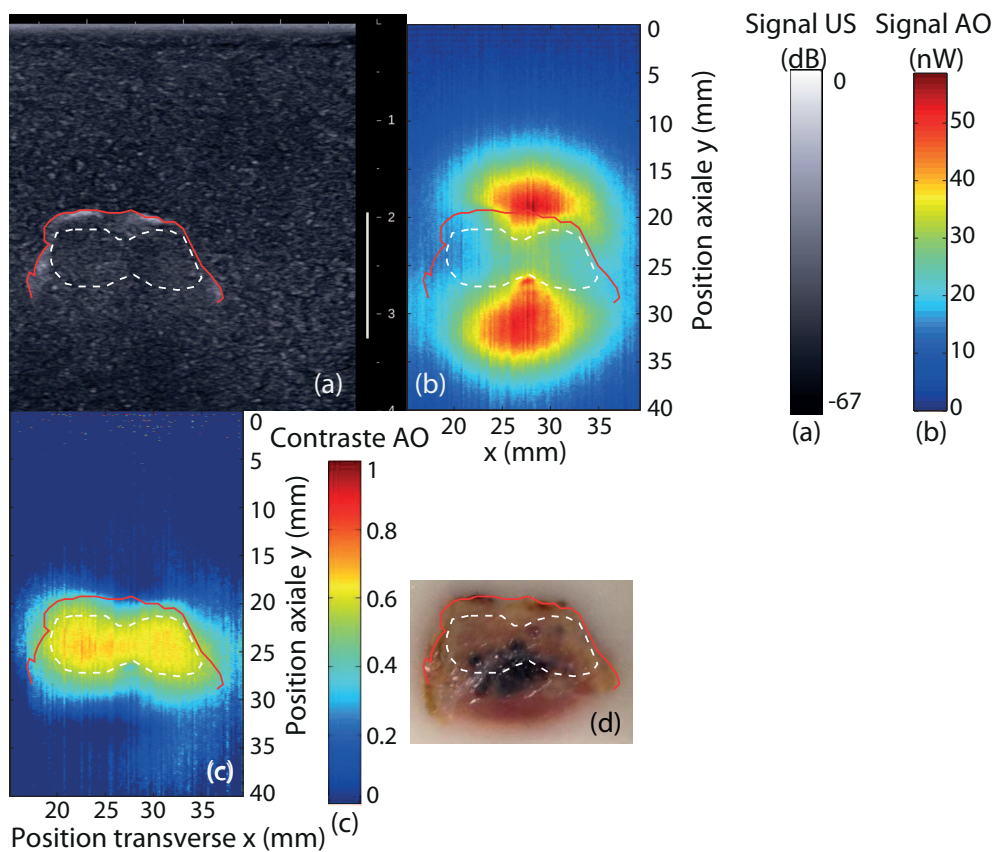
Un éclairage non défocalisé de  $5 \text{ W.cm}^{-2}$ , des impulsions ultrasonores de  $0,5 \mu\text{s}$  à  $8 \text{ MHz}$  et 1000 moyennages par ligne nous ont permis d'obtenir l'image 4.12(b). Celle-ci est ajustée par une gaussienne à deux dimensions qui lui est soustraite pour faire ressortir uniquement la zone de contraste optique sur la figure 4.12(c). La technique acousto-optique détecte bien l'échantillon de foie à l'intérieur du gel malgré sa petite taille. De plus, les coupes comparées de la biopsie dans sa longueur (4.12(d)), tirées de la photographie et de la carte de contraste acousto-optique 4.12(c) démontrent que l'imagerie acousto-optique parvient également à différencier les zones plus ou moins absorbantes au sein du prélèvement. L'adéquation de la mesure acousto-optique avec la photographie en positionnement des zones sombres est bonne en particulier pour les deux extrémités du prélèvement. En revanche, la taille et l'amplitude du contraste dans ces zones est moins comparable à la photographie. La barrette échographique est utilisée avec une ouverture de 2 induisant une résolution latérale de  $0,4 \text{ mm}$  et la résolution axiale vaut  $0,7 \text{ mm}$ . Une meilleure résolution latérale donnerait un rendu plus fiable des tailles des zones sombres et une meilleure résolution axiale permettrait de préciser l'amplitude du contraste. Gardons toutefois à l'esprit que l'adéquation entre la photographie et l'image acousto-optique ne peut être parfaite car ces deux procédés réalisent des mesures optiques différentes.

**Prélèvement hépatique PH<sub>2</sub>** Le deuxième échantillon, plus gros, est un fragment de résection chirurgicale de lésion tumorale hépatique, photographié en 4.13.

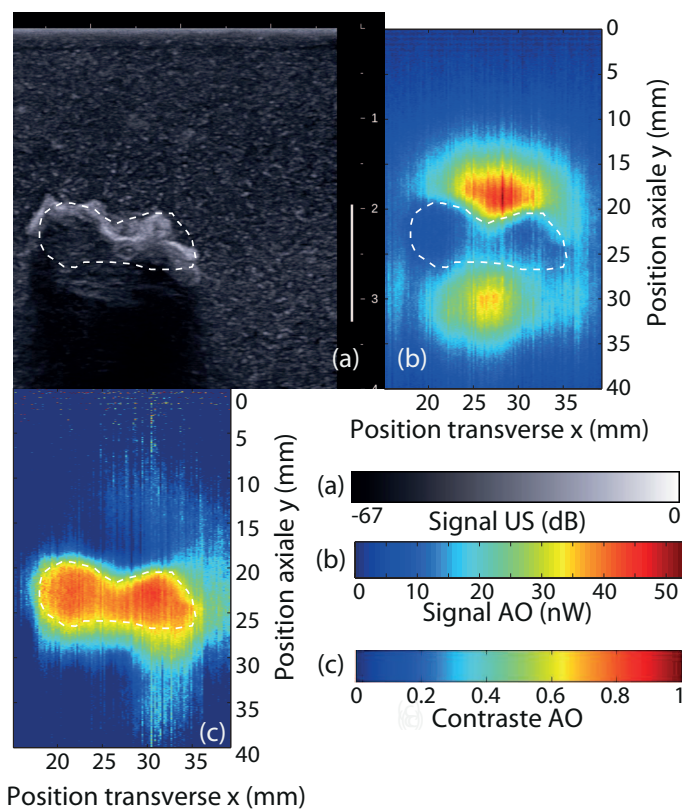


**Figure 4.13** – Photographies du prélèvement hépatique  $PH_2$ , vues de ses deux faces principales.

Comme le prélèvement  $PH_1$ , nous l'avons enfoui dans un gel diffusant d'agar et Intralipide 10% d'environ 3 cm d'épaisseur à  $l^* = 1 \text{ mm}$ . Une des faces de l'échantillon présente des zones plus sombres que les tissus environnant (violet foncé) que l'on espère pouvoir imager par la technique acousto-optique. Pour réaliser l'imagerie, le gel contenant la biopsie est éclairé à  $7 \text{ W.cm}^{-2}$  et le cristal photoréfractif à  $0,7 \text{ W.cm}^{-2}$ . Des impulsions acoustiques de  $0,25 \mu\text{s}$  à  $8 \text{ MHz}$  servent au marquage acousto-optique. Le signal est moyenné 1000 fois par ligne.



**Figure 4.14** – Photographie (d), sections échographique (a) et acousto-optique (b-c) de la biopsie de foie  $PH_2$  en  $z = z_0$ .



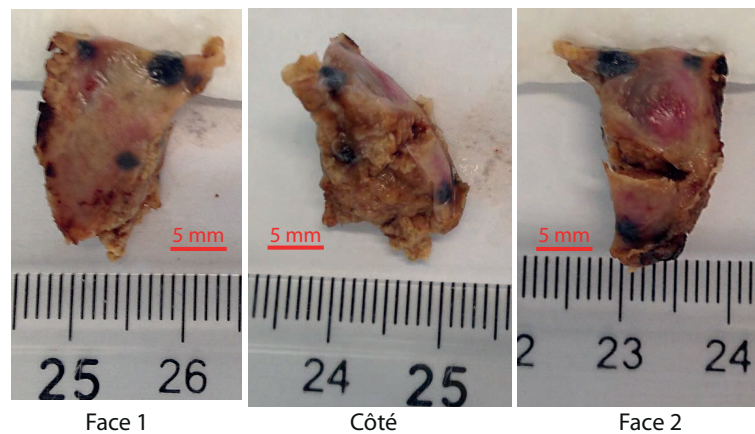
**Figure 4.15** – Sections échographique (a) et acousto-optique (b-c) de la biopsie de foie  $PH_2$  en  $z = z_1$ , à 4 mm de  $z = z_0$ .



Deux images acousto-optiques sont présentées ici à des cotes  $z$  différentes. En  $z = z_0$  (figure 4.14), nous avons essayé de placer la sonde échographique en aplomb de la face photographiée en 4.14(d) afin de visualiser les zones qui apparaissent plus sombres à l'oeil. En faisant correspondre la photographie 4.14(d) et la carte de contraste acousto-optique 4.14(c), on remarque que la zone sombre assez centrale n'est pas mise en évidence. Plusieurs raisons peuvent expliquer cette mise en défaut de notre système d'imagerie acousto-optique. D'abord, l'étendue spatiale des tissus absorbants en profondeur dans la biopsie n'est pas connue et si ces tissus sont localisés en surface, il est difficile de viser précisément la face à imager avec la sonde échographique. On imagerait alors une autre section de la biopsie qui ne contient pas forcément de tissus sombres. En outre, la face visible sur la photographie 4.14(d) n'est pas parfaitement plane et est peut-être orientée en biais par rapport au plan d'imagerie de la barrette. Par conséquent, il faudrait réaliser une tomographie acousto-optique en trois dimensions pour visualiser les zones sombres.

La deuxième image de l'échantillon  $PH_2$  est faite dans les mêmes conditions de mesure que la première image mais concerne un autre plan d'imagerie  $z = z_1$  situé à 4 mm du premier. La carte de contraste acousto-optique 4.15(c) est semblable à celle de la première image, ce qui indique que la biopsie est de composition relativement uniforme dans son épaisseur.

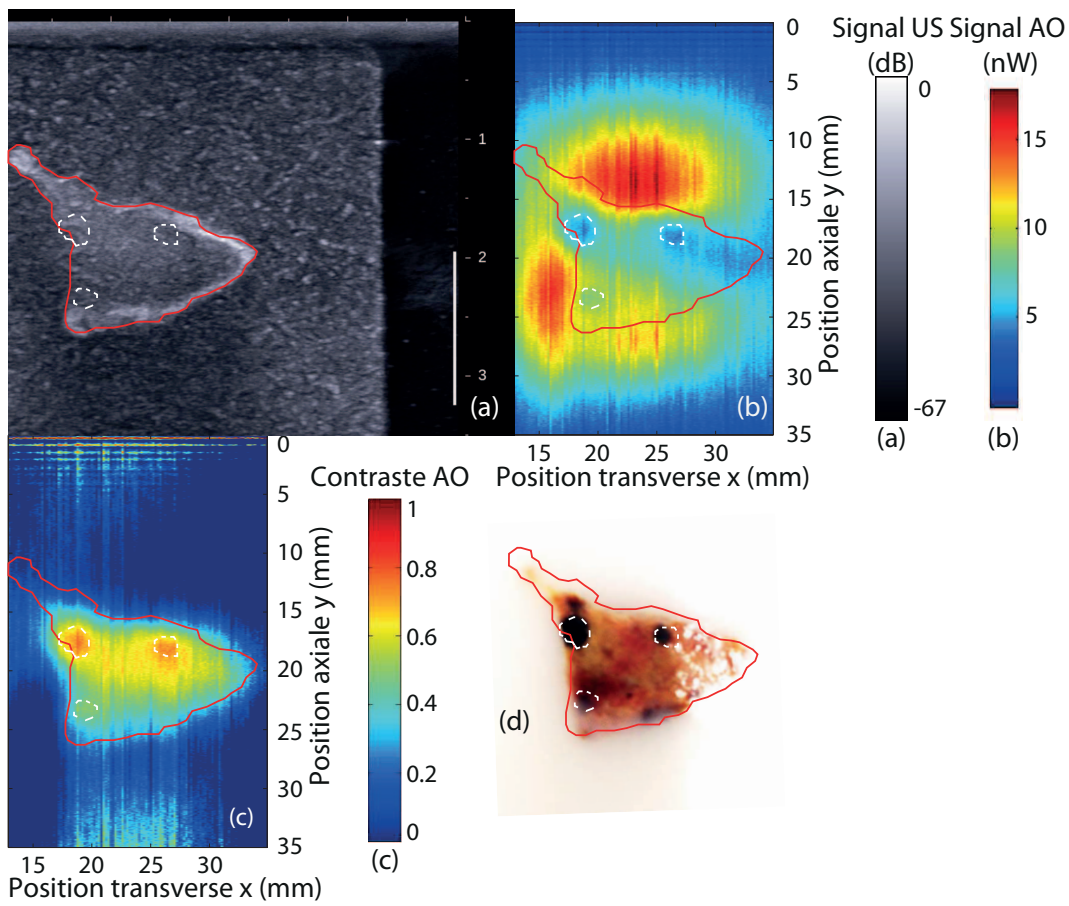
**Prélèvement hépatique  $PH_3$**  Ce dernier échantillon, photographié en 4.16 est issu d'une chirurgie sur un autre patient atteint de métastases.



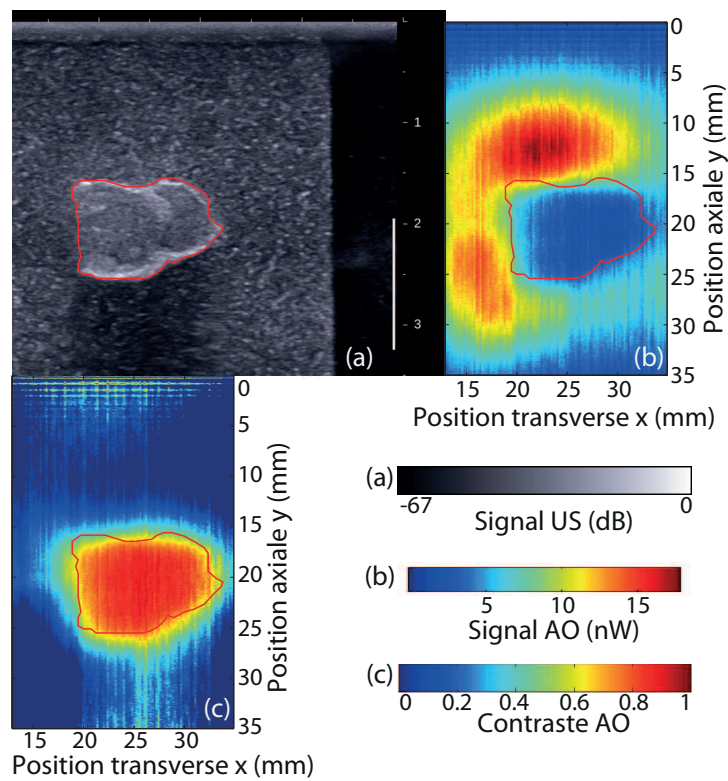
**Figure 4.16** – Photographies du prélèvement hépatique  $PH_3$ .

Comme pour les autres prélèvements, il est dissimulé dans un gel d'agar et Intralipide 10% de 3 cm d'épaisseur à  $l^* = 1 \text{ mm}$ . Les conditions de mesure pour l'imagerie acousto-optique sont les suivantes :  $0,4 \text{ W.cm}^{-2}$  d'éclairement incident sur le gel,  $1,2 \text{ W.cm}^{-2}$  d'éclairement sur le cristal photoréfractif, des impulsions ultrasonores de  $0,25 \mu\text{s}$  à  $8 \text{ MHz}$  et 1000 moyennages par ligne.

La figure 4.17 correspond à l'image de la face 1. Sur l'image acousto-optique 4.17(b) apparaissent des régions localisées de faible signal qui coïncident avec les zones sombres de la photographie 4.17(d), et qui, par ailleurs, ne sont pas identifiables sur l'échographie 4.17(a). Quand l'échantillon est imagé plus loin dans son épaisseur, par exemple en  $z = z_1$  à quelques mm du plan  $z = z_0$ , le niveau de signal acousto-optique sur l'image 4.18(c) est uniforme ce qui signifie que les éléments sombres contenus dans la biopsie ont été dépassés. Bien qu'elles ne soient pas toutes insérées ici, nous avons réalisé des images acousto-optiques pour une douzaine de cotes, espacées de  $0,5 \text{ mm}$ . En suivant l'évolution de ces images, la pénétration des éléments sombres de la biopsie visible à la surface est estimée à  $1,5 \text{ mm}$ .



**Figure 4.17** – Photographie, sections acousto-optique et échographique de la biopsie de foie  $PH_3$  en  $z = z_0$ .



**Figure 4.18** – Sections acousto-optique et échographique de la biopsie de foie  $PH_3$  en  $z = z_1$ , à 3 mm de  $z = z_0$ .

L'imagerie acousto-optique montre donc un grand potentiel pour détecter des métastases de taille millimétrique dans le foie, qui présentent naturellement un contraste optique avec les tissus environnants. Ce potentiel est particulièrement mis en évidence avec les prélèvements  $PH_1$  et  $PH_3$  mais il est nécessaire de répéter l'expérience sur de nouveaux échantillons pour valider entièrement la première phase du projet de collaboration entre l'Institut Curie et l'Institut Langevin. Rappelons que les prélèvements ont été imagés alors qu'ils étaient dissimulés dans des gels diffusants afin de simuler leur situation réelle dans le corps du patient. Cependant, le système d'imagerie acousto-optique que nous utilisons actuellement fonctionne en transmission ce qui est difficilement transposable à l'imagerie directe du foie sur un patient. Cette remarque souligne l'importance de l'élaboration d'un montage détectant le signal acousto-optique en rétrodiffusion, ce qui a déjà été fait par d'autres équipes [161] et ne présente pas de barrière théorique mais simplement logistique. De plus, ces essais ont démontré à plusieurs reprises l'intérêt de réaliser des tomographies acousto-optiques en trois dimensions ce qui nécessite de gagner encore en temps d'acquisition car les images ici présentées sont enregistrées en plusieurs minutes ( $\simeq 5 \text{ min}$ ) et de travailler à une visualisation pratique.

### 4.3 Suivi de thérapie ultrasonore par imagerie acousto-optique

La thérapie par ultrasons focalisés de grande intensité, dits HIFU, consiste en une destruction sélective et non invasive de tissus dégénérés tels que les tumeurs [162]. L'interaction entre les HIFU et les tissus entraîne une élévation de la température du volume ciblé au-delà de  $55^\circ\text{C}$  par absorption de l'énergie ultrasonore [163]. Une exposition aux HIFU maintenue pendant 1 s ou plus provoque une nécrose de coagulation et la mort immédiate des cellules au foyer ultrasonore, sur une zone de la taille d'un grain de riz. L'idée d'utiliser les HIFU pour la thérapie est née dans les années 1940 [164] mais les premiers essais sur l'homme n'ont eu lieu que vers 1960 [165] en neurochirurgie. Depuis les années 1990, la thérapie ultrasonore par HIFU connaît de nombreuses applications cliniques : l'hémostase<sup>2</sup> [166], la thrombolyse<sup>3</sup> [167], la libération ciblée de médicaments [168], le traitement des tumeurs du foie [169], de la prostate [170], du sein [171] et de nombreux autres organes.

Le traitement par HIFU est efficace s'il réussit à atteindre la zone à détruire avec précision. Il est donc nécessaire de l'accompagner de techniques de contrôle et de suivi, pendant l'acte d'ablation et après, pour s'assurer que la thérapie a fonctionné. Que ce soit pour la thermométrie, c'est-à-dire le contrôle de la température au foyer ultrasonore, ou pour contrôler la taille de la lésion, les techniques de référence sont l'IRM et l'échographie [172,173]. Le suivi par IRM est mondialement reconnu mais reste coûteux et nécessite un équipement lourd. Le suivi par échographie est simple à mettre en œuvre étant donné que la source acoustique est déjà fournie pour appliquer des HIFU. Cependant, Bailey et al. se sont aperçu que le contrôle par échographie n'était pas possible en l'absence de cavitation<sup>4</sup> [174]. La raison avancée est que les tissus sains et brûlés réfléchissent les ultrasons de manière semblable ce qui induit un faible contraste entre les deux.

---

2. L'hémostase est l'acte médical qui consiste à empêcher un saignement en cas de plaie ou de chirurgie, par l'utilisation de matériel dédié.

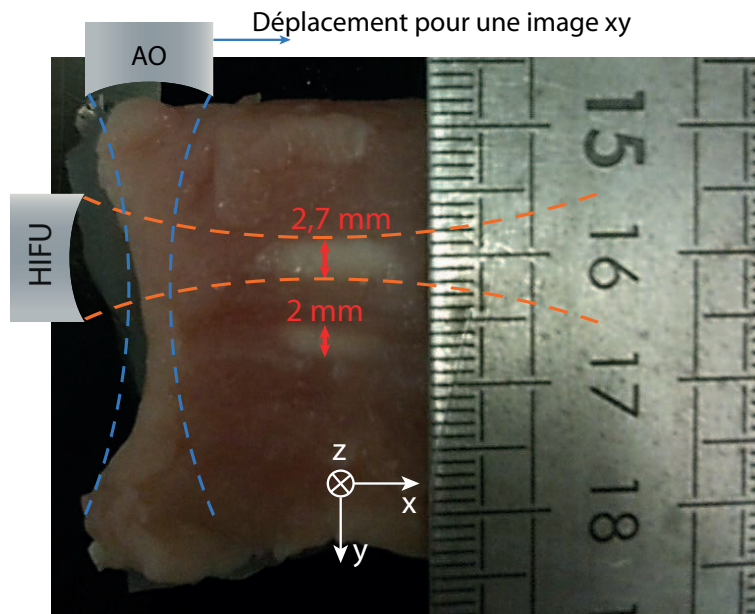
3. La thrombolyse consiste à désagréger les caillots sanguins (thrombus) obstruant le système circulatoire.

4. La cavitation est la naissance et l'oscillation radiale de bulles de gaz et de vapeur dans un liquide ou un solide soumis à une dépression, cette dernière pouvant être créée par écoulement fluide ou par une onde acoustique entraînant des variations de la densité du milieu.



D'autres techniques de suivi sont actuellement étudiées mais ne sont pas encore utilisées cliniquement. Parmi elles, l'élastographie est la plus prometteuse car elle est simple d'utilisation et offre une bonne résolution [175,176]. La création d'une lésion thermique s'accompagnant d'un contraste optique (changement de couleur des tissus brûlés) [177], il est également possible de faire un suivi optique. Ainsi, l'imagerie acousto-optique a été utilisée par Murray et al. pour contrôler la formation d'une lésion créée par HIFU et prédire son volume et le temps d'exposition nécessaire pour l'atteindre [84,178]. Cependant, ces deux dernières fonctions nécessitent une calibration du système, dépendante du tissu concerné par le traitement, qui consiste à apprendre le volume d'une lésion pour une série de temps d'exposition en mesurant les dimensions de la zone nécrosée à posteriori, après avoir découpé l'échantillon. De plus, le signal acousto-optique mesuré n'est pas localisé car le système est dépourvu de résolution axiale et par conséquent la position de la lésion n'est pas contrôlée. Partant de ce premier essai de suivi acousto-optique de thérapie ultrasonore, nous proposons d'améliorer la résolution en dissociant le tir ultrasonore dédié à la création de la lésion et celui servant au marquage des photons pour l'imagerie acousto-optique. Notre objectif est de parvenir à un suivi dynamique en deux dimensions du traitement par HIFU permettant de visualiser l'évolution de la taille de la lésion dans le plan d'imagerie acousto-optique. Ce travail est le fruit d'une collaboration avec Amaury Prost et Emmanuel Bossy de l'Institut Langevin.

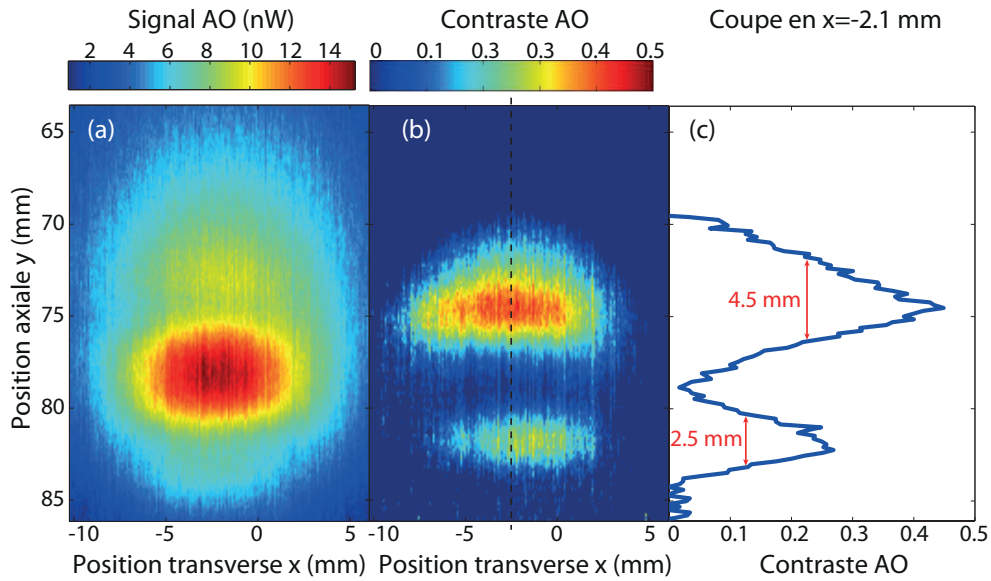
### 4.3.1 Contraste optique de lésions thermiques créées par HIFU



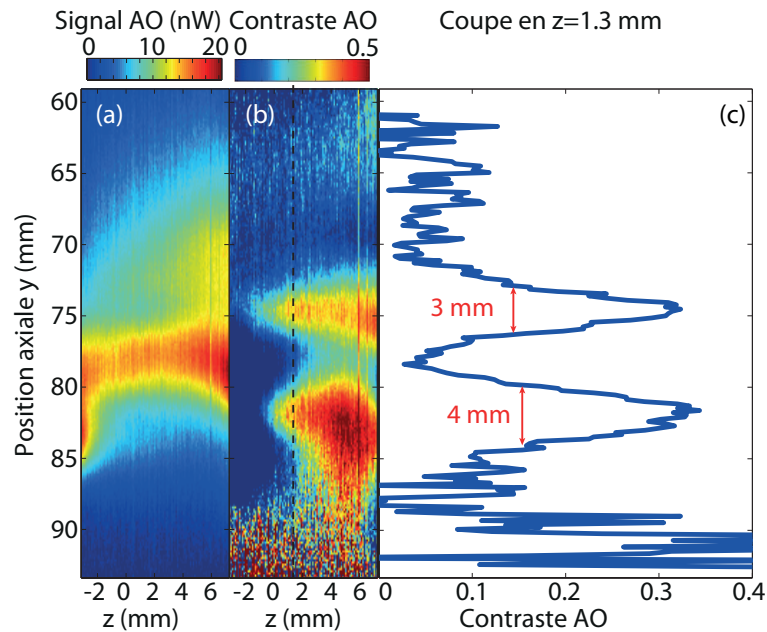
**Figure 4.19** – Photographie de l'échantillon de poulet découpé au niveau des lésions thermiques créées par HIFU. La position du transducteur de puissance, noté HIFU, induit une brûlure en forme de "cigare" dont la plus grande dimension est selon l'axe  $x$ . Le transducteur servant à l'imagerie acousto-optique, noté AO, émet des ultrasons selon la direction de propagation  $y$ . La lumière se propage selon l'axe  $z$ .

Dans un premier temps, vérifions que notre système d'imagerie acousto-optique est sensible au contraste d'une lésion thermique. Le tissu de test est le blanc de poulet. Deux lésions sont créées dans l'échantillon (photographie 4.19) grâce à un transducteur de puissance déclenché pendant 15 s à une fréquence acoustique de 2,3 MHz. L'intensité acoustique au foyer du transducteur, mesurée dans l'eau à l'aide d'un hydrophone calibré, vaut  $3500 \text{ W.cm}^{-2}$  dans les conditions d'excitation électrique utilisées pendant l'expérience. Le seuil d'intensité acoustique minimum admis pour un

effet thermique effectif est de  $1000 \text{ W.cm}^{-2}$  [179]. Pour réaliser les images acousto-optiques, un transducteur ultrasonore mono-élément standard et moins puissant est utilisé, à la fréquence de  $2,3 \text{ MHz}$ , en émission d'impulsions de  $0,38 \mu\text{s}$  de durée.



**Figure 4.20** – Image acousto-optique  $xy$  du plan photographié en 4.19 d'un échantillon de blanc de poulet contenant deux lésions créées par HIFU.



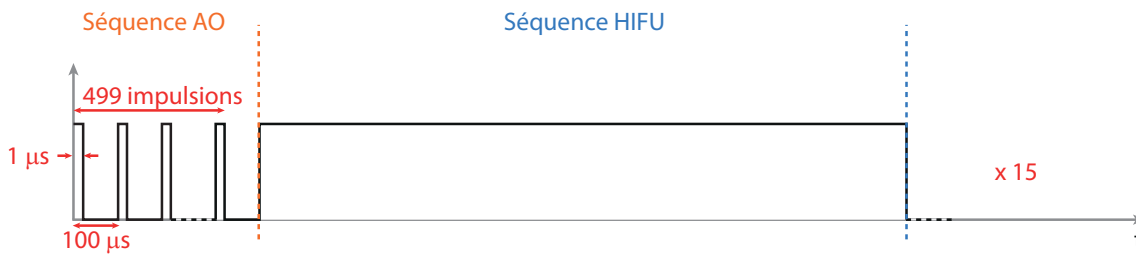
**Figure 4.21** – Image acousto-optique  $yz$  d'un échantillon de blanc de poulet contenant deux lésions créées par HIFU.

Le morceau de blanc de poulet fait  $2 \text{ cm}$  d'épaisseur et est pris dans un gel d'agar transparent pour faciliter sa tenue dans la cuve d'eau. Pour réaliser les images acousto-optiques 4.20 et 4.21, l'éclairement incident vaut  $500 \text{ mW.cm}^{-2}$  et le signal est moyenné 512 fois. L'image 4.20 est une section  $xy$  de l'échantillon intersectant les lésions créées au préalable par HIFU et est obtenu en concaténant le signal acquis par ligne de direction  $y$  pour une centaine de positions  $x$  du transducteur. L'image 4.21 est une section  $yz$  qui nécessite de déplacer le transducteur dans le sens de propagation de la lumière  $z$ .

Ces images confirment la sensibilité de notre système d'imagerie acousto-optique au contraste apporté par une lésion thermique au sein d'un tissu de blanc de poulet. De plus, la résolution de notre technique permet de localiser les lésions et d'en mesurer leur taille, ce qui est particulièrement clair sur les coupes (c) des images 4.20 et 4.21.

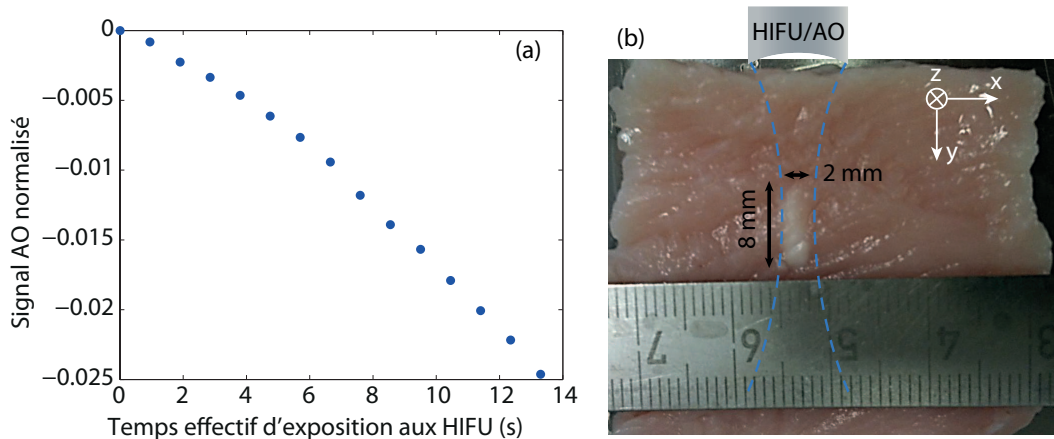
### 4.3.2 Suivi de la création de lésions thermiques par profil acousto-optique

Notre technique d'imagerie est capable de détecter une lésion thermique après sa création mais la question est de savoir si le signal acousto-optique évolue au cours de la formation d'une lésion pour en permettre le suivi. Pour réaliser plusieurs mesures acousto-optiques au cours du temps, nous divisons le temps d'exposition aux HIFU de 15 s en plusieurs séquences de moins de 1 s, laissant entre elles quelques dizaines de ms pour la mesure optique.



**Figure 4.22** – Chronogramme des émissions ultrasonores pour le suivi dynamique de la création d'une lésion HIFU dans du blanc de poulet. La séquence représentée est répétée 15 fois pour atteindre un temps d'exposition aux HIFU d'environ 15 s. Une séquence acousto-optique est composée de 499 impulsions correspondant au nombre de moyennages.

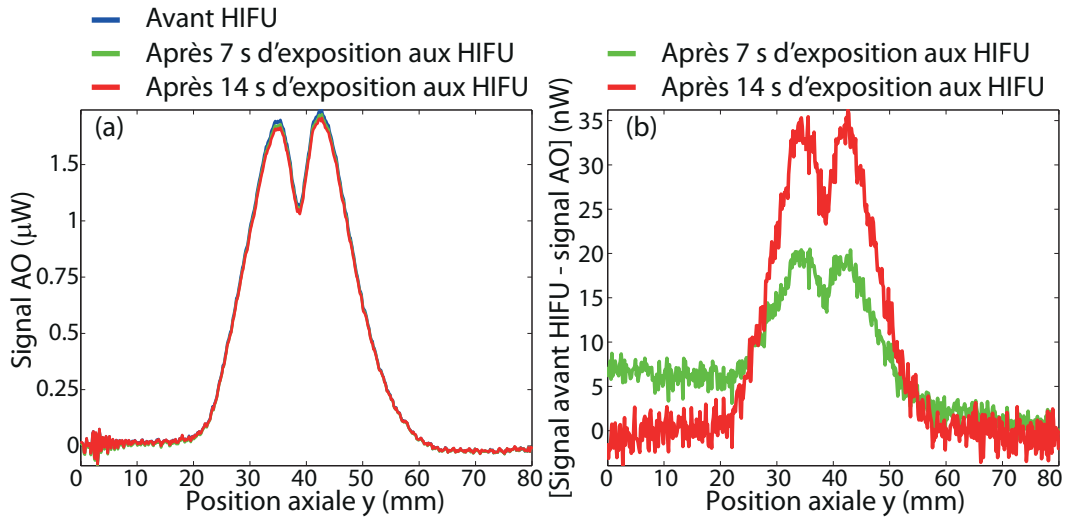
Le chronogramme des émissions ultrasonores est donné sur la figure 4.22. Comme précédemment, l'expérience est réalisée sur un échantillon de blanc de poulet de 2 cm d'épaisseur. Celui-ci reçoit un éclairage laser de  $6 \text{ W.cm}^{-2}$ . Le même transducteur de puissance est utilisé pour l'imagerie acousto-optique et pour l'envoi d'ondes HIFU, procurant en son foyer une intensité de  $3500 \text{ W.cm}^{-2}$ .



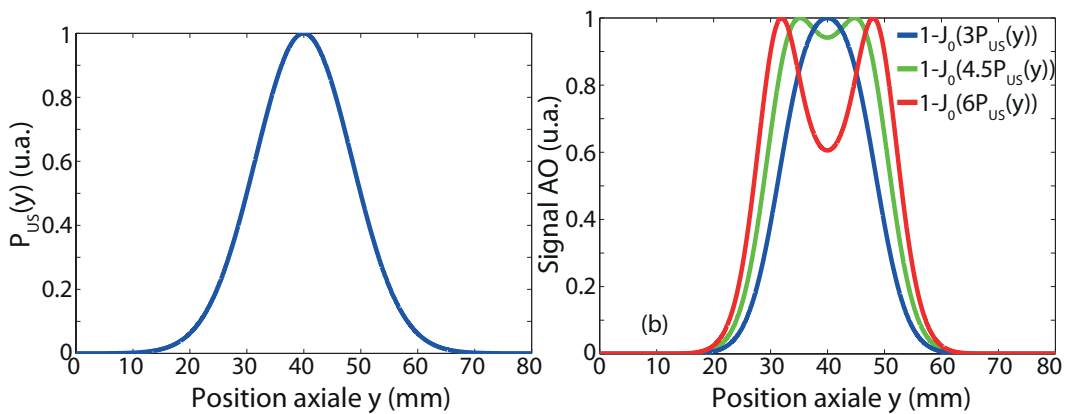
**Figure 4.23** – (a) Évolution du signal acousto-optique en fonction du temps d'exposition effectif aux HIFU. Le signal est normalisé par le profil de référence avant émission d'HIFU. (b) Photographie de la lésion à la fin de l'expérience, après découpe du blanc de poulet.

Comme le montre la figure 4.23(a), le signal acousto-optique décroît entre chaque séquence d'exposition aux HIFU, témoignant d'une évolution de la lésion. La photographie 4.23(b) de l'échantillon découpé, prise à la fin de l'expérience, atteste de la création de la lésion. La figure 4.24(a)

représente trois profils acousto-optiques axiaux mesurés à 7 s d'intervalle pendant la création de la lésion HIFU, réalisée sur une durée totale de 15 s. Ces trois profils sont très semblables et il faut calculer la différence avec le profil axial de référence (courbe bleue), avant toute exposition aux HIFU, pour voir que la création de la lésion induit une diminution du signal acousto-optique (figure 4.24(b)). Lorsque le tissu est intact et homogène, c'est-à-dire en l'absence de lésion, le profil acousto-optique prend habituellement une forme gaussienne, caractéristique de la tache de diffusion de la lumière projetée sur la ligne d'imagerie. Or ici, le profil de référence représenté en bleu sur la figure 4.24(a) n'est pas gaussien car il présente une chute locale du signal au niveau du sommet de la gaussienne attendue.



**Figure 4.24** – Évolution des profils axiaux acousto-optiques en fonction du temps d'exposition aux HIFU. (a) Profils axiaux avant toute émission d'HIFU (bleu), après 7 s d'exposition aux HIFU (vert) et après 14 s d'exposition aux HIFU (rouge). (b) Différence entre les profils axiaux à 7 s ou 14 s d'exposition et le profil axial de référence, avant émission d'HIFU.

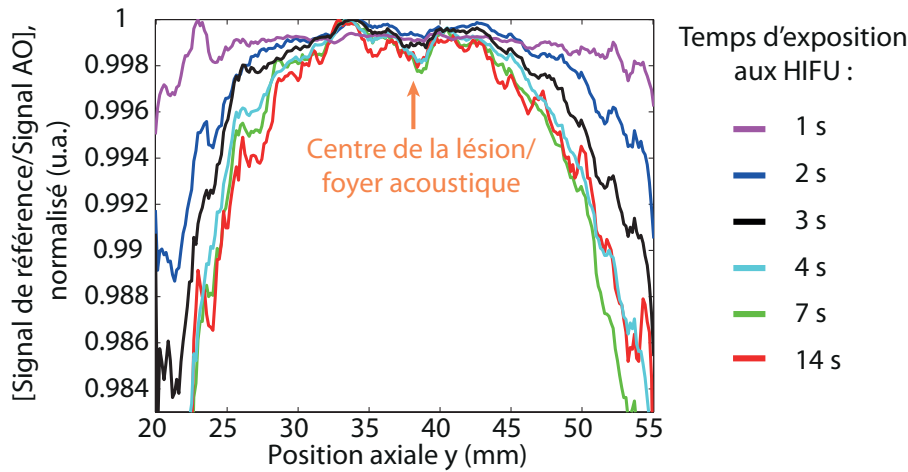


**Figure 4.25** – Modélisation du marquage acoustique et forme de profil attendue en fonction de la puissance ultrasonore. (a) Modélisation gaussienne de la répartition spatiale de la pression ultrasonore, (b) Simulation du profil acousto-optique normalisé pour des valeurs croissantes de pression ultrasonore.

Pour expliquer cette forme du profil acousto-optique, une modélisation rapide est proposée en figure 4.25. Dans cette expérience, nous utilisons le transducteur de puissance pour l'émission d'HIFU comme pour le marquage acoustique, sans modifier la puissance d'alimentation, ce qui nous place dans des conditions d'intensité ultrasonore encore jamais testées en imagerie acousto-optique. En détection par holographie photoréfractive, après développement en série de

Bessel, l'intensité des photons non marqués le long de la ligne d'imagerie est proportionnelle à  $1 - J_0(\beta(y) P_{US}(y) f(t - y/v_{US}))$  [180], où  $\beta(y)$  traduit l'efficacité de marquage et dépend de la densité locale de photons,  $P_{US}(y)$  est le profil de répartition de la pression acoustique selon l'axe de propagation ultrasonore, représenté sur le graphique 4.25(a), et  $f(t)$  est la fonction de modulation de l'onde acoustique. Sur la figure 4.25(b), à faible pression acoustique (courbe bleue), le profil acousto-optique simulé est bien gaussien mais à plus fortes valeurs de  $P_{US}$  (courbes verte et rouge), les simulations comportent une décroissance locale au sommet qui coïncide avec l'expérience. La forme des profils acousto-optiques est donc due à une pression acoustique inhabituellement élevée et elle est gênante car elle correspond à la forme attendue en présence d'une inclusion plus absorbante ou plus diffusante que le reste de l'échantillon.

Pour visualiser l'apparition de la lésion sur le signal acousto-optique, un traitement plus judicieux est de faire le quotient du signal de référence par le signal acousto-optique entre chaque séquence HIFU. Les courbes résultant de ce calcul pour plusieurs temps d'exposition aux HIFU sont représentées sur la figure 4.26, chacune étant normalisée par son maximum. Ces courbes ont été lissées pour une meilleure visualisation mais le signal reste faible et fortement bruité. Cependant, on peut noter une forte évolution du signal de 0 à 4 s d'exposition avec l'apparition et le renforcement du contraste optique au niveau du foyer ultrasonore ainsi que l'augmentation du contraste sur les bords du "grain de riz" ou "cigare" acoustique. De 4 s à 15 s, le signal de la figure 4.26 reste relativement constant ce qui s'explique certainement par une forme de lésion qui n'évolue plus avec toutefois un contraste acousto-optique qui continue à augmenter si on se réfère à la courbe 4.23(a). La légère décroissance au centre de ces courbes permet de repérer la position de la lésion mais il est difficile de suivre l'évolution de la taille car la forme du signal ne s'y prête pas et le bruit est important.

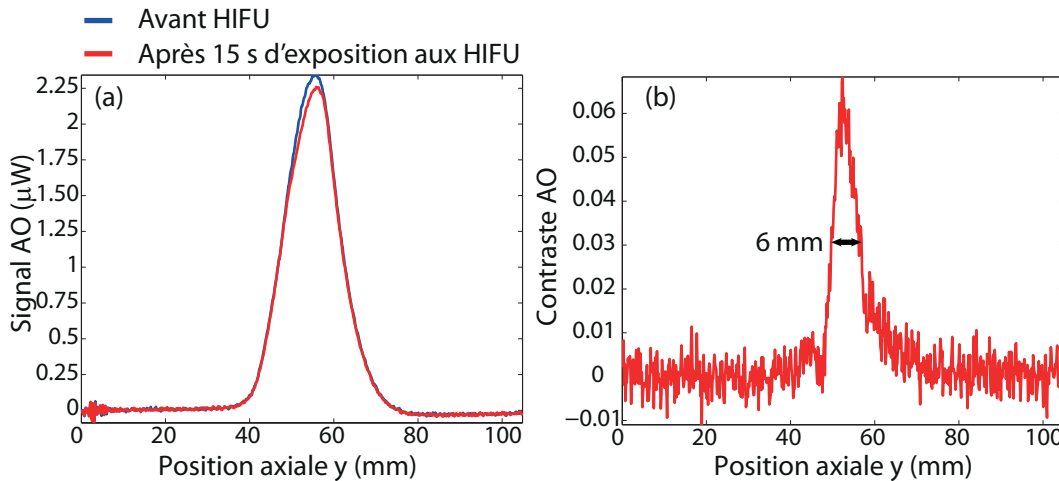


**Figure 4.26** – Visualisation de la lésion par quotient entre le signal de référence et les signaux pris à différents temps d'exposition aux HIFU. Pour chaque temps d'exposition, le quotient est normalisé par son maximum.

Une faible chute d'un signal est plus facile à percevoir lorsque celui-ci est à son maximum, comme c'est le cas habituellement quand le profil acousto-optique de la tache de diffusion est une gaussienne, perturbée en son centre par un élément de contraste optique. Pour nous remettre dans ces conditions, nous avons fait varier la distance du transducteur à l'échantillon entre la création de la lésion thermique et la phase d'imagerie. Il ne s'agit pas ici de faire un suivi progressif mais seulement une image acousto-optique avant la création de la lésion et une image après, car le déplacement du transducteur allongerait l'intervalle de temps entre deux séquences d'HIFU. Nous utilisons le même échantillon de blanc de poulet que précédemment en le déplaçant légèrement



pour créer une nouvelle lésion ailleurs dans le tissu. Si on note  $y_0$  la position du transducteur pour créer la lésion, un premier profil acousto-optique est enregistré en plaçant le transducteur en  $y_1$ , 15 mm au-dessus de  $y_0$  sur l'axe vertical de propagation des ultrasons  $y$ , avant l'envoi d'ondes HIFU. Ensuite le transducteur est redescendu en  $y_0$  et la lésion thermique est créée en 15 s d'exposition aux HIFU, à 38 mm environ sous le transducteur, cette distance correspondant à sa distance focale. Le transducteur est de nouveau positionné en  $y_1$  pour acquérir un profil acousto-optique après HIFU. Ces deux profils et leur différence sont portés respectivement sur les figures 4.27(a) et 4.27(b). La lésion est alors plus clairement mise en évidence, localisée, et sa dimension selon la ligne imagée peut être estimée.



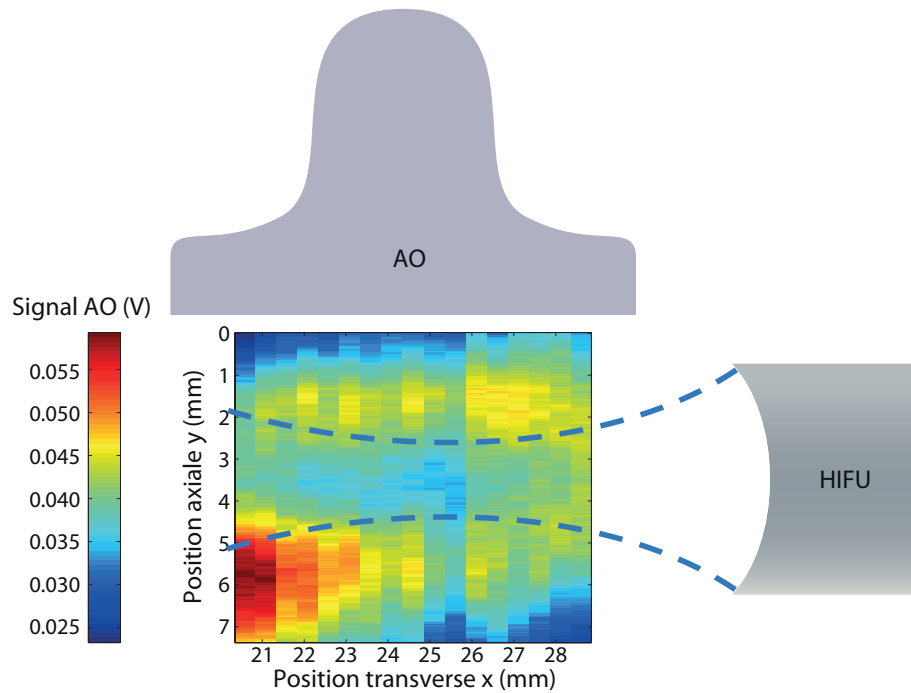
**Figure 4.27** – (a) Profils acousto-optiques avant et après exposition aux HIFU obtenus lorsque la zone à imager est 15 mm sous le foyer du transducteur. (b) Lésion extraite de la différence des courbes de la figure (a).

Par conséquent, l'utilisation d'un transducteur de puissance ne semble pas adaptée à l'imagerie acousto-optique du fait des trop grandes pressions qu'il délivre en son foyer ultrasonore. Notre transducteur a été testé à plus faible tension d'alimentation induisant une intensité acoustique d'environ  $500 W.cm^{-2}$  au foyer. Dans ces conditions d'utilisation, pourtant insuffisantes pour la création d'une lésion, le profil acousto-optique obtenu présente toujours une chute local en son sommet, mais plus faible. Une solution envisageable est de changer la tension d'alimentation du transducteur entre la phase d'imagerie et la phase d'HIFU, en contrôlant par ordinateur un générateur de fonctions. Il est nécessaire d'étudier les délais temporels que cela implique pour savoir s'il est toujours possible de faire une mesure acousto-optique en un temps court devant le temps caractéristique de diffusion thermique (quelques secondes).

### 4.3.3 Vers un suivi en deux dimensions de la création de lésions thermiques

S'il est suffisamment rapide, le suivi idéal pour effacer les doutes sur la taille et la localisation d'une lésion HIFU est bidimensionnel. À l'instar des traitements guidés par échographie, il faut envisager le suivi de thérapie ultrasonore par image acousto-optique en deux dimensions. L'image acousto-optique 4.28 d'une lésion thermique dans du blanc de poulet a été réalisée en 1 s, et on y reconnaît la forme en "grain de riz" bleue, entourée de tissus non touchés en jaune. Un compromis simple pour gagner en vitesse d'acquisition est de réduire la taille de la zone imagée. En effet, la fenêtre de visualisation est ici de  $7 \times 7 mm^2$  environ. Le nombre de moyennages a également été réduit à 250 (contre 500 dans les expériences de suivi 1D). Cependant, le principal gain en

temps vient de la manière de programmer l'Aixplorer®. Auparavant, la communication entre l'ordinateur et l'échographe Aixplorer® était rétablie à la fin de chaque ligne d'acquisition pour commander la position suivante de focalisation des ultrasons. Pour réaliser cette image rapide, une série d'ordres de focalisation sont enregistrés dans la mémoire de l'échographe avant même de commencer l'acquisition et le temps perdu en communication entre les appareils est économisé pendant la prise d'image. Cette méthode, testée en fin de thèse, nécessite encore des ajustements de synchronisation mais est très prometteuse pour gagner en rapidité sur l'imagerie acousto-optique.



**Figure 4.28** – Image rapide (1 s d'acquisition) en deux dimensions d'une lésion HIFU dans un échantillon de blanc de poulet, réalisée avec une sonde échographique reliée à un Aixplorer®.

## 4.4 Conclusion

Nous avons présenté dans ce chapitre les premières images acousto-optiques de tissus tumoraux portées à notre connaissance. Bénéficiant d'une technique de détection par holographie photo-réfractive performante et d'une longueur d'onde d'utilisation optimale pour l'examen de tissus biologiques, notre système d'imagerie acousto-optique fournit des images de très bonne qualité qui méritent d'être proposées au diagnostic clinique. Les demandes des médecins en imagerie optique sont nombreuses, que ce soit pour la détection de mélanome sur le foie (projet avec l'Institut Curie) ou pour l'imagerie du cerveau et la mesure fonctionnelle du taux d'oxygénation du sang.

Ce chapitre a également démontré la complémentarité de l'imagerie ultrasonore et de la mesure acousto-optique. Il est intéressant d'envisager le développement de l'imagerie acousto-optique comme une modalité supplémentaire d'un échographe car, d'une part, une image acousto-optique contient une information mêlée de contraste optique et acoustique qui gagne à être comparée avec la réponse acoustique seule. D'autre part, l'utilisation de sondes échographiques programmables est indispensable pour augmenter la vitesse d'imagerie acousto-optique. Dans ce sens, un de nos projets actuels est d'appliquer la technique d'insonification par ondes planes à l'imagerie acousto-optique.



---

Enfin, le développement de l'imagerie acousto-optique doit se tourner vers la conception d'un appareil portatif et facilement "applicable" sur l'individu, à l'image d'une sonde échographique. Ce travail passe par l'utilisation de fibres optiques qui permettent non seulement de réaliser plus facilement une détection de la lumière rétrodiffusée mais aussi de déporter la mesure. Par ailleurs, le caractère quantitatif des mesures acousto-optiques reste également à travailler pour pouvoir proposer une méthode d'évaluation absolue des propriétés optiques des tissus.



---

## Prémices d'imagerie quantitative et de comparaison des systèmes de détection

---

### Table des matières

5.1	Mesure des propriétés optiques des tissus par imagerie acousto-optique . . . .	<b>106</b>
5.1.1	Relation expérimentale entre le signal acousto-optique et les coefficients optiques du milieu . . . . .	106
5.1.2	Sensibilité . . . . .	108
5.1.3	Méthodes existantes . . . . .	110
5.2	Modèle théorique de profil acousto-optique . . . . .	<b>111</b>
5.2.1	Mise en équation du problème . . . . .	111
5.2.2	Résolution et approximations . . . . .	114
5.2.3	Confrontation à l'expérience et à la simulation de Monte-Carlo . . . .	116
5.3	Comparaison des systèmes de détection pour l'imagerie acousto-optique . . . .	<b>117</b>
5.3.1	Détection par holographie numérique en régime impulsionnel . . . . .	117
5.3.2	Configuration des autres techniques et conditions expérimentales . . .	118
5.3.3	Comparaison des performances sur un gel test . . . . .	119
5.3.4	Conclusion . . . . .	121

---

La distribution des espèces chimiques dans les tissus est un bon indicateur de l'état de santé d'un individu. Pour quantifier la concentration d'hémoglobine ou le taux de saturation en oxygène par exemple, l'utilisation de méthodes optiques telles que la spectroscopie Raman ou la tomographie optique diffuse font référence. Cependant, avec ces techniques, l'inspection en profondeur, au delà du millimètre, est souvent impossible ou s'accompagne d'une perte de résolution. Développées plus récemment, l'imagerie photo-acoustique et acousto-optique offrent la possibilité de détecter des contrastes optiques en profondeur dans les tissus mais sont encore peu utilisées pour la caractérisation optique, c'est-à-dire la mesure des coefficients optiques locaux dans les tissus.

La première partie de ce chapitre décrit une expérience permettant de proposer une relation simple entre le signal acousto-optique et le coefficient d'absorption optique d'un objet. En passant en revue les méthodes acousto-optiques existantes de mesure quantitative des propriétés optiques, nous verrons qu'il est nécessaire de recourir à la modélisation pour valider les hypothèses expérimentales et nous proposerons une alternative à la simulation de Monte-Carlo habituellement choisie. Enfin, nous ferons le point sur les différentes méthodes de détection acousto-optiques utilisées au cours de la thèse lors d'une comparaison de performances sur un gel test.

## 5.1 Mesure des propriétés optiques des tissus par imagerie acousto-optique

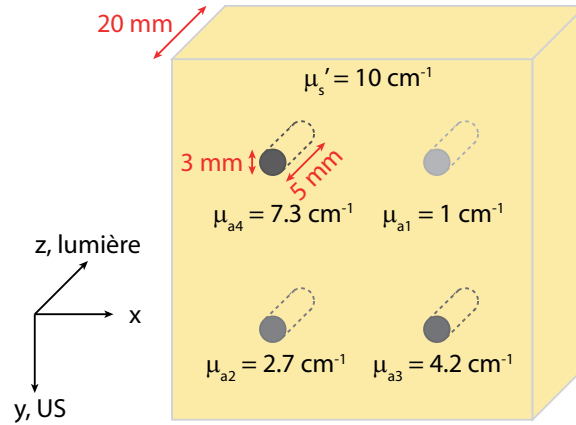
Le signal acousto-optique d'une zone millimétrique sondée par les ultrasons dépend de la densité de photons locale, de la pression acoustique, du taux de marquage ultrasonore et de l'efficacité de détection. Il est donc difficile, à partir d'une seule mesure acousto-optique, d'extraire les propriétés absolues de la zone ciblée en matière de coefficients optiques d'absorption ou de diffusion. L'expérience classique pour observer l'évolution du signal acousto-optique en fonction des coefficients optiques consiste à imager un échantillon uniformément diffusant contenant des objets de contrastes optiques différents.

### 5.1.1 Relation expérimentale entre le signal acousto-optique et les coefficients optiques du milieu

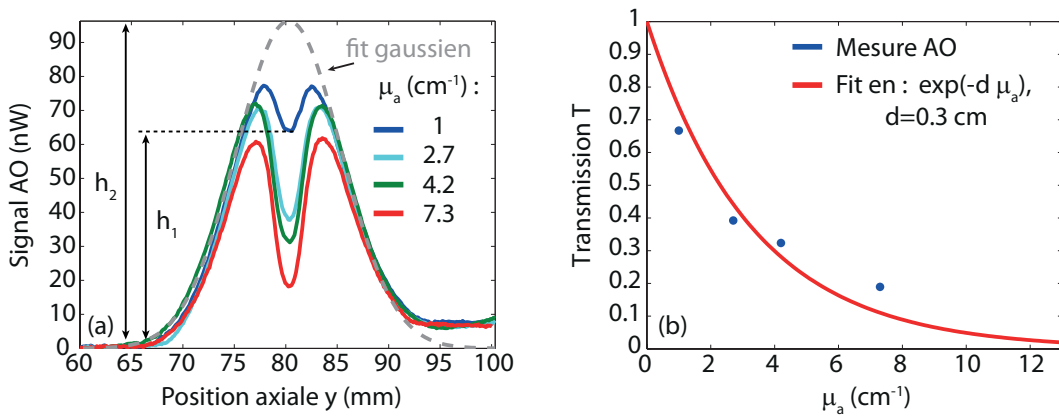
L'échantillon diffusant, schématisé sur la figure 5.1, est fabriqué à partir d'agar, d'Intralipide 10% et d'eau, et présente un coefficient de diffusion optique  $\mu'_s = 10 \text{ cm}^{-1}$  ( $l^* = 1 \text{ mm}$ ). Il contient quatre inclusions cylindriques de dimensions  $3 \times 3 \times 5 \text{ mm}^3$  dans les directions respectives  $x$ ,  $y$  et  $z$ , espacées d'environ  $15 \text{ mm}$  horizontalement et verticalement. En ajoutant de l'encre noire au mélange de base utilisé pour la fabrication du gel, les coefficients d'absorption de ces quatre inclusions sont fixés à  $\mu_{a1} = 1 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\mu_{a2} = 2,7 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\mu_{a3} = 4,2 \text{ cm}^{-1}$ , et  $\mu_{a4} = 7,3 \text{ cm}^{-1}$ .

Un profil axial acousto-optique (selon l'axe  $y$ ) est réalisé au niveau de chaque inclusion avec le montage IAORT couplé à un transducteur acoustique mono-élément, en déplaçant l'échantillon dans le système d'imagerie. L'éclairement laser à  $780 \text{ nm}$  vaut  $2 \text{ W.cm}^{-2}$ . La résolution axiale

d'imagerie  $\Delta y$  est de  $0,65 \text{ mm}$  (1 cycle ultrasonore à  $2,3 \text{ MHz}$ ). Le signal est moyenné 512 fois avec la carte d'acquisition, qui échantillonne à  $10 \text{ MHz}$ .



**Figure 5.1** – Schéma du gel diffusant contenant quatre inclusions de coefficients d'absorptions différents.



**Figure 5.2** – Évolution du signal acousto-optique en fonction du coefficient d'absorption pour le gel à  $\mu'_s = 10 \text{ cm}^{-1}$  de  $2 \text{ cm}$  d'épaisseur, contenant quatre inclusions : (a) profils acousto-optiques axiaux mesurés pour chaque inclusion, (b) niveau de transmission optique en fonction du coefficient d'absorption.

Les profils acousto-optiques des quatre inclusions ainsi que l'enveloppe de la tache de diffusion (courbe grise), obtenue par un ajustement gaussien des profils, sont représentés sur la figure 5.2(a). La courbe 5.2(b) est alors tracée en calculant, pour chaque profil, le rapport  $\frac{h_1}{h_2}$  du signal acousto-optique au centre de l'absorbeur par le niveau de signal attendu au même endroit en absence d'inclusion, donné par l'enveloppe. Ce rapport correspond à la transmission de lumière au niveau de l'absorbeur dont on peut attendre, une variation selon la loi de Beer-Lambert en  $\exp(-\mu_a d)$ , où  $d$  est la dimension caractéristique sur laquelle a lieu l'absorption. Cette grandeur  $d$  avoisine fortement la taille de l'absorbeur dans la direction du profil acousto-optique mais reflète également les propriétés d'absorption et de diffusion de l'environnement de l'absorbeur ainsi que la résolution de l'imagerie acousto-optique.

La courbe rouge de la figure 5.2(b) exprime une loi en  $\exp(-\mu_a d)$  et suit bien la tendance d'évolution des points obtenus expérimentalement. Pour réaliser cet ajustement, les valeurs de  $\mu_a$  sont supposées connues et  $d$  est le paramètre que l'on fait varier pour que la courbe rouge approche au mieux les données expérimentales. Il est estimé ici à  $3 \text{ mm}$ , avec une grande marge d'erreur de 30% liée à l'incertitude que suppose l'estimation de la loi de tendance à partir de quatre points de mesure. Cependant, l'ordre de grandeur donné par  $d$  reste comparable aux dimensions réelles

de l'inclusion, prévues à la fabrication du gel et est également en adéquation avec la largeur à mi-hauteur des chutes locales du signal acousto-optique des profils de la figure 5.2(a).

Il est donc possible d'estimer le coefficient d'absorption local à partir d'une mesure acousto-optique avec une loi simple en  $\exp(-\mu_a d)$ , qui requiert uniquement la connaissance de la longueur caractéristique d'absorption  $d$ . Un modèle est nécessaire pour évaluer  $d$  soit à partir de la géométrie de l'absorbeur si elle est connue, soit à partir de la trace qu'il laisse sur le profil acousto-optique. La définition de l'enveloppe de la tache de diffusion joue également un rôle important dans le calcul du niveau de transmission et gagnerait à être modélisée.

### 5.1.2 Sensibilité

En estimant l'amplitude du bruit sur le signal acousto-optique détecté et en utilisant la courbe de tendance, la dynamique et la sensibilité de mesure du coefficient d'absorption peuvent être évaluées. Dans le cas de l'imagerie du gel à quatre inclusions, les signaux acousto-optiques sont très peu bruités avec une fluctuation moyenne du signal de  $5.10^{-4} \text{ nW}$ . L'hypothèse choisie pour définir la sensibilité est la suivante : une variation du signal acousto-optique est détectable si elle est supérieure à l'amplitude des fluctuations d'un facteur deux. Les valeurs de transmission tirées des profils sont alors données à l'erreur  $\delta T$  près, avec ici  $\delta T = \pm 5.10^{-3}$ . Le coefficient d'absorption minimal détectable  $\mu_{a,min}$  correspond à une transmission inférieure de  $\delta T$  à la transmission maximale unitaire, tandis que le coefficient d'absorption maximal détectable  $\mu_{a,max}$  correspond à une valeur de transmission de  $\delta T$ . Il s'ensuit les équations suivantes :

$$1 - \delta T = \exp(-d \mu_{a,min}) \quad (5.1)$$

$$\delta T = \exp(-d \mu_{a,max}) \quad (5.2)$$

Par conséquent,  $\mu_{a,min}$  et  $\mu_{a,max}$  sont définis par :

$$\mu_{a,min} = -\frac{1}{d} \ln(1 - \delta T) \quad (5.3)$$

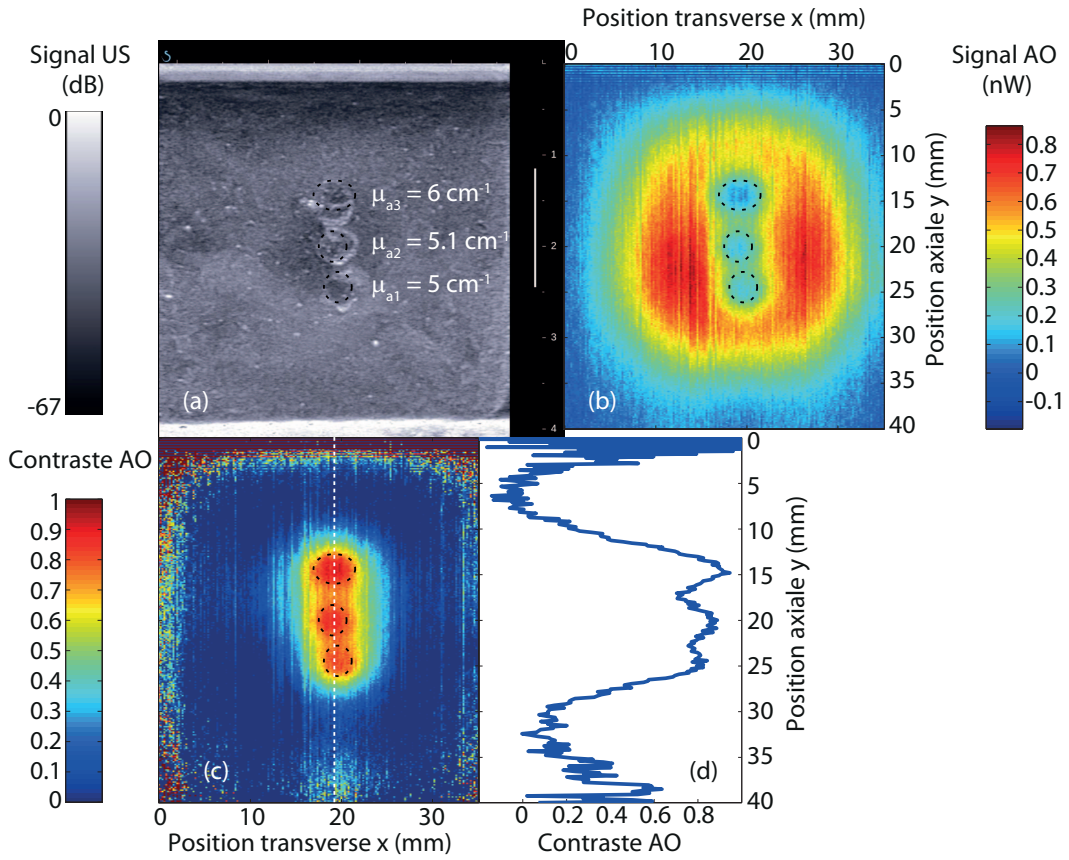
$$\mu_{a,max} = -\frac{1}{d} \ln(\delta T) \quad (5.4)$$

Les données de la figure 5.2 conduisent à  $\mu_{a,min} = 0,02 \text{ cm}^{-1}$  et  $\mu_{a,max} = 17,7 \text{ cm}^{-1}$ . La mesure du coefficient optique bénéficie ici d'une grande sensibilité.

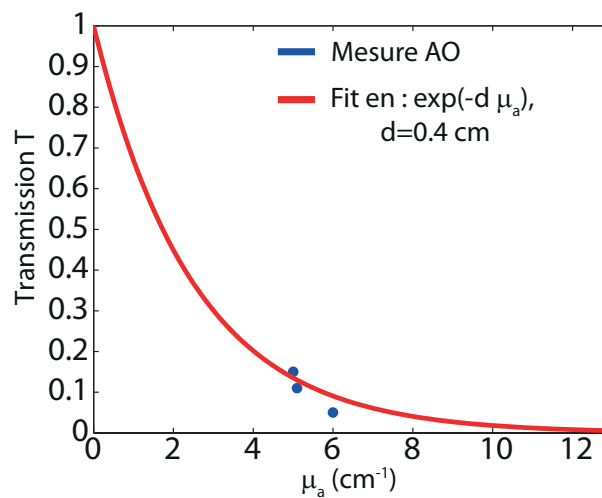
Nous avons voulu tester ces performances en sensibilité en renouvelant l'expérience sur un gel contenant trois inclusions de coefficients d'absorption plus rapprochés, valant  $5 \text{ cm}^{-1}$ ,  $5.1 \text{ cm}^{-1}$  et  $6 \text{ cm}^{-1}$ . Le gel diffusant mesure à présent  $3 \text{ cm}$  d'épaisseur dans la direction de propagation de la lumière  $z$ . Les trois inclusions cylindriques sont alignées et séparées d'environ  $5 \text{ mm}$  centre à centre de façon à pouvoir les imager toutes sans déplacer l'échantillon. Le transducteur mono-élément a été remplacé par une sonde échographique reliée à un Aixplorer® qui envoie des impulsions ultrasonores de  $1 \mu\text{s}$  à  $6 \text{ MHz}$ . L'éclairement incident vaut  $3,7 \text{ W.cm}^{-2}$  et chaque ligne d'acquisition est moyennée 1000 fois. Les résultats de cette expérience sont recensés sur la figure 5.3.

Comme nous l'avons déjà remarqué dans le chapitre précédent, les inclusions, et en particulier leurs bords, sont visibles sur l'échographie 5.3(a), mais l'amplitude du signal ultrasonore semble identique dans les trois inclusions. Les images acousto-optiques 5.3(b) et (c) permettent également de repérer les absorbeurs et apportent en outre un pouvoir discriminatoire. En effet, la coupe en  $x = 19,4 \text{ mm}$  de la carte de contraste acousto-optique, représentée en 5.3(d), révèle une réponse optique d'amplitude différente pour chaque inclusion. À en croire cette courbe, la sensibilité du

système acousto-optique dans le cadre de cette expérience est supérieure à  $0,1 \text{ cm}^{-1}$  puisque il est possible de faire la différence entre les signaux correspondant à  $\mu_{a1} = 5 \text{ cm}^{-1}$  et  $\mu_{a2} = 5,1 \text{ cm}^{-1}$ . Cependant, pour le vérifier, il faut évaluer le niveau de bruit.



**Figure 5.3** – Sections échographique et acousto-optique d'un gel diffusant contenant trois inclusions de coefficients d'absorption différents. (a) Échographie, (b) Image acousto-optique, (c) Carte de contraste acousto-optique, (d) Coupe de l'image (c) le long de la ligne blanche discontinue, en  $x = 19,4 \text{ mm}$ .



**Figure 5.4** – Évolution du signal acousto-optique en fonction du coefficient d'absorption pour le gel à  $\mu'_s = 10 \text{ cm}^{-1}$  de  $3 \text{ cm}$  d'épaisseur, contenant trois inclusions.

L'épaisseur de l'échantillon diffusant et la forte concentration d'absorbeurs en son centre entraînent une baisse du signal optique détectable et de plus grandes fluctuations par rapport à l'expérience précédente, estimées à  $\pm 0,015 \text{ nW}$ . L'erreur à considérer sur l'estimation du coefficient



d'absorption vaut alors  $\delta T = 0,025$ . La courbe de tendance donnant l'évolution de la transmission  $T$  en fonction du coefficient d'absorption est estimée à partir des trois points expérimentaux et représentée sur la figure 5.4. On en déduit alors  $\mu_{a,max} = 9,2 \text{ cm}^{-1}$  et  $\mu_{a,min} = 0,6 \text{ cm}^{-1}$ . Les conditions d'imagerie ne garantissent donc pas la discrimination de  $\mu_{a1}$  et  $\mu_{a2}$  qui n'ont que  $0,1 \text{ cm}^{-1}$  d'écart mais permettent de différencier  $\mu_{a3}$  de  $\mu_{a1}$  ou  $\mu_{a3}$  de  $\mu_{a2}$ . Cependant, en moyennant davantage le bruit est facilement réductible ce qui assurerait une sensibilité à  $0,1 \text{ cm}^{-1}$  au contraste d'absorption.

L'imagerie acousto-optique est donc un outil sensible de mesure du coefficient d'absorption à condition de connaître la taille caractéristique  $d$  des zones de contraste optique. Pour des absorbeurs petits devant le libre parcours moyen de transport, leur taille donne une bonne approximation de la dimension caractéristique d'absorption et peut être mesurée à l'échographie si les structures étudiées sont repérables par imagerie ultrasonore. Pour des contrastes plus étendus, il est nécessaire de faire appel à la modélisation. La simulation fournit également un outil de validation de la loi proposée pour l'évolution de la transmission en fonction de  $\mu_a$ . En effet, la loi en  $\exp(-\mu_a d)$  semble en accord avec les deux expériences mais ces dernières cumulent seulement 7 points de mesure.

### 5.1.3 Méthodes existantes

**Mesure acousto-optique simple par détection de contraste de speckle** L'équipe néerlandaise de Bratchenia et al. a également remarqué cette évolution en  $\exp(-\mu_a d)$  du signal transmis acousto-optique en fonction du coefficient d'absorption [83]. Ils ont mesuré la perte de contraste du speckle avec une caméra pour quatre absorbeurs de coefficients d'absorption différents ainsi que pour une absorption nulle ce qui leur permet d'accéder à l'enveloppe de la tache de diffusion expérimentalement. La confrontation avec des simulations de Monte-Carlo adaptées à l'imagerie acousto-optique montre une allure similaire des tendances d'évolution expérimentale et simulée mais des valeurs absolues différentes. Par conséquent, leur expérience sur "fantôme" contenant plusieurs absorbeurs différents leur permet de réaliser une calibration du système. En testant la méthode sur plusieurs échantillons, Bratchenia et al. montrent que la mesure quantitative par imagerie acousto-optique est efficace sur des milieux homogènes contenant des contrastes d'absorption bien localisés mais l'est moins sur des tissus plus variables tels que le blanc de poulet [29].

**Mesures acousto-optiques à deux longueurs d'onde par détection de contraste de speckle** Kim et al. ont réalisé le même type d'expérience sur des absorbeurs mélangeant deux colorants, un rouge et un bleu, dans des proportions variables. Comme dans le montage de Bratchenia et al., la mesure acousto-optique est effectuée sur la variation du contraste de speckle en sortie de l'échantillon, identifiable sur les images enregistrées par une caméra. En utilisant deux longueurs d'onde d'imagerie ( $\lambda_1 = 633 \text{ nm}$ ,  $\lambda_2 = 657 \text{ nm}$ ) et en supposant une dépendance du signal acousto-optique en  $\exp(-\mu_a d)$  pour une taille d'objet  $d$  connue, ils sont capables de déterminer la concentration totale en colorant dans l'absorbeur et la proportion de chacun des colorants [82]. À nouveau, la confrontation aux simulations de Monte-Carlo révèle un décalage des valeurs absolues malgré une allure semblable ce qui souligne l'importance d'une calibration.

**Mesures acousto-optiques à deux pressions acoustiques par holographie photoréfractive** Une autre technique s'appuyant sur la dépendance en pression acoustique du signal acousto-optique a été proposée par Murray et al. Il s'agit d'observer l'évolution du signal de contraste en pression (PCS) en fonction du coefficient d'extinction  $\mu_e = \mu_a + \mu'_s$ , le PCS étant défini comme le

rapport du signal acousto-optique provenant du foyer ultrasonore pour deux pressions acoustiques distinctes, par exemple  $P_1 = 0,3 \text{ MPa}$  et  $P_2 = 1,5 \text{ MPa}$  [84]. Ainsi, avant de procéder à une mesure quantitative du coefficient d'extinction dans un échantillon inconnu, le PCS est calibré sur une série de gels diffusants contenant des absorbeurs de coefficients d'absorption fixés. L'inconvénient de cette technique est que sa sensibilité est faible ce qui implique  $10^4$  à  $10^5$  mesures pour un seul point de calibration.

Quelle que soit la méthode de mesure, la détermination de valeurs absolues pour les propriétés optiques des échantillons nécessite une calibration. Pour la réaliser, les deux premières méthodes évoquées dans cette partie utilisent des simulations de Monte-Carlo. Celles-ci sont gourmandes en temps de calcul numérique en particulier pour des échantillons épais. Nous souhaitons simplifier la phase de simulation en cherchant à définir un modèle théorique à partir des équations de transport dans les milieux diffusants comme alternative au calcul numérique de Monte-Carlo.

## 5.2 Modèle théorique de profil acousto-optique

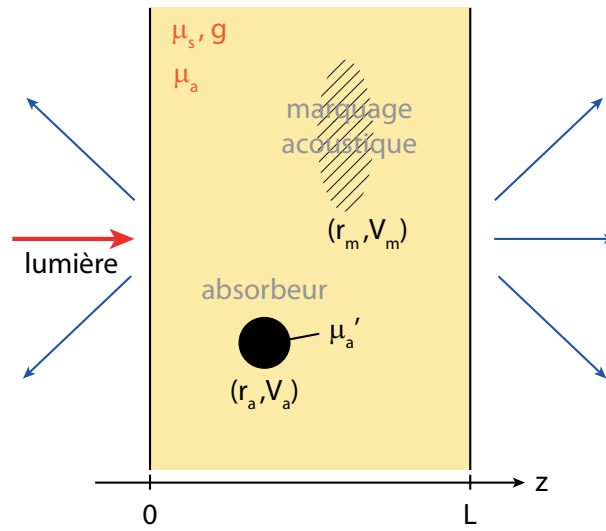
La raison première qui a motivé la recherche d'un modèle théorique de simulation du profil acousto-optique est de vérifier les propriétés d'un gel test, en termes de coefficients optiques et de taille d'inclusion. En effet, les quantités d'eau, d'Intralipide et d'agar mélangées pour faire le gel sont prévues pour obtenir des coefficients optiques précis mais qui peuvent varier en fonction de la précision avec laquelle est réalisée le mélange et du lot de produits utilisé. De même, avec notre méthode de fabrication, la taille d'une inclusion absorbante est généralement mal connue avant d'avoir découpé l'échantillon. Un profil acousto-optique renseigne sur la densité de photons le long d'une ligne intersectant l'absorbeur ce qui ne donne pas la taille exacte de l'objet car la probabilité d'absorption est plus grande pour un photon situé au voisinage de l'absorbeur que pour un photon plus éloigné. Cette réalité entraîne un effet d'ombre autour de l'inclusion qui tend à surestimer la taille de l'absorbeur sur un profil acousto-optique. Les caractéristiques des gels diffusants sont donc mal connues alors qu'ils sont utilisés comme supports de calibration. Il est possible de générer numériquement un profil acousto-optique à l'aide de méthodes de Monte-Carlo en imposant les coefficients optiques mais ce calcul prend du temps d'autant plus qu'il faut le répéter jusqu'à trouver les coefficients optiques qui garantissent l'adéquation entre l'expérience et la simulation. Dans cette section, nous cherchons à mettre au point un modèle théorique permettant de prédire le profil acousto-optique attendu expérimentalement par un calcul analytique simple.

L'étude théorique que nous allons présenter ici a été menée par Romain Pierrat et Rémi Carminati, de l'Institut Langevin.

### 5.2.1 Mise en équation du problème

**Définition du système** Le système étudié est schématisé sur la figure 5.5. Il s'agit d'une tranche de milieu diffusant d'épaisseur  $L$  dans le sens de propagation de la lumière, de coefficients optiques  $\mu_s$ ,  $\mu_a$  et de facteur d'anisotropie  $g$ . Ce milieu contient un absorbeur de volume  $V_a$  et repéré par la position  $\mathbf{r}_a$  qui présente le même coefficient de diffusion  $\mu_s$  et le même facteur d'anisotropie  $g$  mais un coefficient d'absorption différent  $\mu'_a$ . Le modèle prend également en compte le marquage acoustique dans une zone confinée de volume  $V_m$  et situé à la position  $\mathbf{r}_m$  dans la tranche diffusante.

Le problème consiste à obtenir le signal acousto-optique transmis (sortant à droite) ou rétrodiffusé (sortant à gauche) par le milieu, ce qui revient à déterminer le flux des photons marqués en sortie de la tranche diffusante.



**Figure 5.5** – Schéma du système étudié.

**Équation fermée sur la densité d'énergie** Pour imiter les conditions expérimentales,  $L$  vaut quelques centimètres,  $\mu_a$  est faible ( $< 0,1 \text{ cm}^{-1}$ ) et  $\mu'_s$  vaut entre 7 et  $12 \text{ cm}^{-1}$ .  $L$  est donc grand devant  $\frac{1}{\mu'_s}$  ce qui implique l'existence de diffusion multiple dans le milieu. Dans de tels milieux et lorsque le flux lumineux varie selon un temps caractéristique grand devant  $\frac{1}{c \mu'_s}$ , il est classique de s'intéresser à l'évolution de la densité d'énergie, régie par l'équation de diffusion [181]. L'équation de diffusion de la tranche diffusante sans absorbeur s'écrit :

$$-\mathcal{D} \Delta u(\mathbf{r}) + \mu_a c u(\mathbf{r}) = S(\mathbf{r}) \quad (5.5)$$

où  $u$  est la densité d'énergie du système,  $\Delta$  l'opérateur laplacien,  $S$  le terme source,  $c$  la vitesse de propagation de l'énergie et  $\mathcal{D}$  le coefficient de diffusion. Dans cette dernière appellation, le mot diffusion est à comprendre au sens du transport d'une grandeur (matière, température) et non de la diffusion optique caractérisée par le coefficient  $\mu_s$ . L'absorption du milieu étant négligeable devant la diffusion,  $\mathcal{D}$  peut être considéré indépendant de  $\mu_a$  et vaut  $\mathcal{D} = \frac{c}{3 \mu'_s}$ , où  $\mu'_s = \mu_s(1 - g)$ .

Une équation semblable régit la densité d'énergie  $u'$  en présence de l'absorbeur :

$$-\mathcal{D} \Delta u'(\mathbf{r}) + [\mu_a + \Delta \mu_a(\mathbf{r})] c u'(\mathbf{r}) = S(\mathbf{r}) \quad (5.6)$$

où  $\Delta \mu_a = \mu'_a - \mu_a$  dans la zone absorbante et s'annule partout ailleurs. La différence des équations 5.6 et 5.5 donne :

$$-\mathcal{D} \Delta [u'(\mathbf{r}) - u(\mathbf{r})] + \mu_a c [u'(\mathbf{r}) - u(\mathbf{r})] = -\Delta \mu_a(\mathbf{r}) c u'(\mathbf{r}) \quad (5.7)$$

Il s'agit à nouveau d'une équation de diffusion, vérifiée par  $u'(\mathbf{r}) - u(\mathbf{r})$  et dont le terme source est  $-\Delta \mu_a(\mathbf{r}) c u'(\mathbf{r})$ . Afin d'obtenir une équation fermée sur la densité d'énergie  $u'$  en présence d'un absorbeur, il est nécessaire d'introduire la fonction de Green de l'équation de diffusion, notée  $G(\mathbf{r}, \mathbf{r}')$ . Celle-ci décrit la réponse impulsionnelle du système, à savoir la solution de l'équation de diffusion pour un terme source s'écrivant sous la forme  $\delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}')$ . Ainsi la solution de l'équation de diffusion pour un terme source quelconque est simplement donnée par la convolution de la fonction

de Green par ce terme source. La solution de l'équation 5.7 prend alors la forme suivante :

$$u'(\mathbf{r}) - u(\mathbf{r}) = -c \int G(\mathbf{r}, \mathbf{r}') \Delta\mu_a(\mathbf{r}') u'(\mathbf{r}') d^3\mathbf{r}' \quad (5.8)$$

ce qui s'écrit aussi :

$$u'(\mathbf{r}) = u(\mathbf{r}) - \Delta\mu_a c \int G(\mathbf{r}, \mathbf{r}') u'(\mathbf{r}') d^3\mathbf{r}' \quad (5.9)$$

Cette écriture explicite permet d'identifier la densité d'énergie du système comme la somme de la densité d'énergie dans le milieu en l'absence d'absorbeur et de la densité d'énergie absorbée par l'inclusion. La dépendance de cette contribution d'absorption à la densité d'énergie totale reflète le fait que les photons peuvent effectuer plusieurs passages dans l'absorbeur.

**Application de l'équation de diffusion au problème acousto-optique** La modélisation du signal acousto-optique se décompose en deux étapes. La première consiste à étudier la propagation du faisceau incident jusqu'à la zone de marquage via la densité d'énergie notée  $u_1$  tandis que la deuxième étudie la propagation des photons marqués jusqu'à la sortie de la tranche diffusante, via la densité d'énergie  $u_2$ . Les photons sont susceptibles de rencontrer l'absorbeur lors des deux étapes de propagation. Les densités d'énergie  $u_1$  et  $u_2$  obéissent à l'équation 5.9, ce qui se traduit par :

$$u_1(\mathbf{r}) = u_0(\mathbf{r}) - \Delta\mu_a c \int_{V_a} G(\mathbf{r}, \mathbf{r}') u_1(\mathbf{r}') d^3\mathbf{r}' \quad (5.10)$$

$$u_2(\mathbf{r}) = \int_{V_m} G(\mathbf{r}, \mathbf{r}') f(\mathbf{r}') u_1(\mathbf{r}') d^3\mathbf{r}' - \Delta\mu_a c \int_{V_a} G(\mathbf{r}, \mathbf{r}') u_2(\mathbf{r}') d^3\mathbf{r}' \quad (5.11)$$

où  $u_0$  est la densité d'énergie de la source se propageant dans le système en l'absence d'absorbeur et  $f$  est une fonction décrivant à la fois l'efficacité de marquage acoustique et le profil spatial de la zone de marquage.

Enfin, le calcul des flux transmis  $\Phi_t$  et réfléchi  $\Phi_r$  se fait à partir de la loi de Fick aux interfaces :

$$\Phi_t = -\mathcal{D} \frac{\partial}{\partial z} \int u_2(\mathbf{r}) dx dy \Big|_{z=L} \quad (5.12)$$

$$\Phi_r = \mathcal{D} \frac{\partial}{\partial z} \int u_2(\mathbf{r}) dx dy \Big|_{z=0} \quad (5.13)$$

**Fonctions de Green** La résolution du problème décrit par les équations 5.10 à 5.13 nécessite la connaissance de la fonction de Green en trois dimensions. Cette dernière ne se calcule pas toujours explicitement pour des milieux complexes. Cependant, dans un milieu homogène et infini, la fonction de Green, notée  $G_0$  vaut :

$$G_0(\mathbf{r} - \mathbf{r}_s) = \frac{\exp(-\kappa \|\mathbf{r} - \mathbf{r}_s\|)}{4 \pi \mathcal{D} \|\mathbf{r} - \mathbf{r}_s\|} \quad (5.14)$$

où  $\kappa = \sqrt{3 \mu_a \mu'_s}$  et  $\mathbf{r}_s$  est la position de la source.

Dans la suite, nous utiliserons également la fonction de Green en trois dimensions intégrée sur le plan transverse à la propagation de la lumière, ce qui revient à considérer une fonction de Green à une dimension mais qui conserve un coefficient de diffusion  $\mathcal{D} = \frac{c}{3\mu'_s}$ . Dans le cas d'un milieu homogène infini, cette fonction de Green à une dimensions  $g_0$  s'écrit :

$$g_0(z - z_s) = \frac{\exp(-\kappa |z - z_s|)}{2 \mathcal{D} \kappa} \quad (5.15)$$

### 5.2.2 Résolution et approximations

**Approximation dipolaire** Afin d'obtenir une expression analytique des flux transmis et réfléchis, nous effectuons d'abord une approximation sur les équations fermées permettant de calculer les densités d'énergie. D'après l'équation 5.14, la fonction de Green et donc la densité d'énergie ont une échelle caractéristique de  $1/\kappa$  loin de la source. Par conséquent, dans l'hypothèse où la taille de l'absorbeur est petite devant  $1/\kappa$ , la densité d'énergie peut être considérée constante au sein de l'inclusion. Concrètement, cette hypothèse restreint le problème à la détection de petites inclusions à fort contraste d'absorption. Ainsi, dans l'équation 5.10 prise en  $\mathbf{r}_a$ , le terme  $u_1(\mathbf{r}_a)$  peut être sorti de l'intégrale car il est constant sur le volume  $V_a$  et factorisé, ce qui donne :

$$u_1(\mathbf{r}_a) = u_0(\mathbf{r}_a) [1 + \Delta\mu_a c \int_{V_a} G(\mathbf{r}_a, \mathbf{r}') d^3\mathbf{r}']^{-1} \quad (5.16)$$

À partir de l'équation 5.10, on peut également écrire  $u_1$  en un point quelconque du système situé loin de la source :

$$u_1(\mathbf{r}) = u_0(\mathbf{r}) - \Delta\mu_a c V_a G(\mathbf{r}, \mathbf{r}_a) u_1(\mathbf{r}_a) \quad (5.17)$$

En injectant l'égalité 5.16, on obtient l'équation non fermée suivante pour  $u_1$  :

$$u_1(\mathbf{r}) = u_0(\mathbf{r}) - G(\mathbf{r}, \mathbf{r}_a) \alpha u_0(\mathbf{r}_a) \quad (5.18)$$

où  $\alpha$  est défini par :

$$\alpha = \Delta\mu_a c V_a \left[ 1 + \Delta\mu_a c \int_{V_a} G(\mathbf{r}_a, \mathbf{r}') d^3\mathbf{r}' \right]^{-1} \quad (5.19)$$

Cette quantité  $\alpha$  est l'équivalent d'une polarisabilité dans le cadre de l'approximation dipolaire en optique et traduit l'ensemble des interactions multiples entre les photons et l'inclusion absorbante.

L'équation 5.18 peut être résolue facilement à condition de connaître la géométrie de l'inclusion et la fonction de Green du système. L'absorbeur est modélisé par une sphère de rayon  $a$ . De plus, dans le cas d'échantillons épais et en considérant la densité d'énergie en profondeur dans l'échantillon, toutes les distances mises en jeu sont grandes devant  $1/\kappa$ . Ainsi, la fonction de Green d'un milieu homogène et infini peut être utilisée en très bonne approximation pour le calcul de  $\alpha$  qui vaut alors :

$$\alpha = \frac{\alpha_0}{1 + \frac{3}{8} \frac{\alpha_0}{\pi a \mathcal{D}}} \quad (5.20)$$

avec  $\alpha_0 = V_a c \Delta\mu_a$

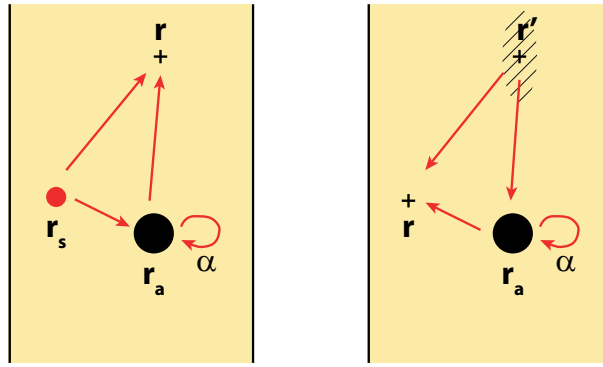
**Approximation du terme source** Dans un formalisme de diffusion, l'aspect directionnel du faisceau incident n'est pas pris en compte puisque les équations portent sur les densités d'énergie. Il est donc nécessaire de faire une approximation sur le faisceau source qui est, dans notre configuration expérimentale, un faisceau laser éclairant le système sous incidence normale. Classiquement, la source réelle est remplacée par un point source située à une profondeur  $z_s$  dans le système.  $z_s$  vaut un libre parcours moyen de transport  $l^*$  car après une telle distance, le faisceau initial devient quasi-isotrope et perd la mémoire de sa direction initiale. La densité d'énergie source  $u_0$  s'écrit alors à partir de la fonction de Green et l'équation 5.18 devient :

$$u_1(\mathbf{r}) = [G(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) - G(\mathbf{r}, \mathbf{r}_a) \alpha G(\mathbf{r}_a, \mathbf{r}_s)] S \quad (5.21)$$

où  $S$  est l'amplitude de la source. Dans le cadre de ces approximations, l'expression de la densité d'énergie des photons marqués  $u_2$  se simplifie aussi :

$$u_2(\mathbf{r}) = \int_{V_m} [G(\mathbf{r}, \mathbf{r}') - G(\mathbf{r}, \mathbf{r}_a) \alpha G(\mathbf{r}_a, \mathbf{r}')] f(\mathbf{r}') u_1(\mathbf{r}') d^3\mathbf{r}' \quad (5.22)$$

D'après ces deux équations, chaque densité d'énergie peut être vue comme la somme de deux contributions : d'une part la propagation directe de la source ou de la zone de marquage vers un point  $\mathbf{r}$  et d'autre part la propagation vers ce même point  $\mathbf{r}$  en passant par l'inclusion absorbante. Cette représentation est schématisée sur la figure 5.6.



**Figure 5.6** – Représentation schématique des équations 5.21 (gauche) et 5.22 (droite) sur les densités d'énergie.

Après injection de l'expression de  $u_2$  et intégration de la fonction de Green sur le plan transverse dans les équations 5.12 et 5.13, les flux transmis et réfléchi s'écrivent :

$$\Phi_t = -\mathcal{D} \frac{\partial}{\partial z} \int_{V_m} [g(z, z') - g(z, z_a) \alpha G(\mathbf{r}_a, \mathbf{r}')] f(\mathbf{r}') u_1(\mathbf{r}') d^3\mathbf{r}' \Big|_{z=L} \quad (5.23)$$

$$\Phi_r = \mathcal{D} \frac{\partial}{\partial z} \int_{V_m} [g(z, z') - g(z, z_a) \alpha G(\mathbf{r}_a, \mathbf{r}')] f(\mathbf{r}') u_1(\mathbf{r}') d^3\mathbf{r}' \Big|_{z=0} \quad (5.24)$$

**Approximation du volume de marquage ponctuel** Enfin, si le volume de marquage est lui-même petit devant  $1/\kappa$  et s'il n'est pas trop proche de l'absorbeur, il s'approxime par une zone ponctuelle telle que  $f(\mathbf{r}) = \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_m)$ . Nous obtenons ainsi des expressions analytiques pour les flux transmis et réfléchi relativement simples :

$$\Phi_t = [g_t(z_m) - g_t(z_a) \alpha G(\mathbf{r}_a, \mathbf{r}_m)] u_1(\mathbf{r}_m) \quad (5.25)$$

$$\Phi_r = [g_r(z_m) - g_r(z_a) \alpha G(\mathbf{r}_a, \mathbf{r}_m)] u_1(\mathbf{r}_m) \quad (5.26)$$

avec

$$g_t(z) = \frac{\exp[-\kappa(L - z)] - \exp[-\kappa(z + L)]}{1 - \exp(-2\kappa L)} \quad (5.27)$$

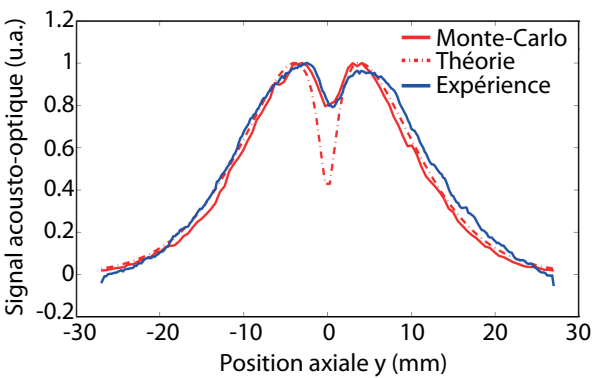
$$g_r(z) = \frac{\exp[-\kappa z] - \exp[-\kappa(2L - z)]}{1 - \exp(-2\kappa L)} \quad (5.28)$$

### 5.2.3 Confrontation à l'expérience et à la simulation de Monte-Carlo

Nous avons testé la pertinence du modèle théorique en le comparant à un profil axial expérimental réalisé sur un gel diffusant contenant une inclusion, en transmission. Les coefficients optiques et les dimensions de l'échantillon fabriqué sont mal connus et seulement présumés ce qui empêche une vérification fiable du modèle. Par conséquent, nous commençons par simuler le profil expérimental par un calcul numérique de Monte-Carlo. Le tableau ci-dessous référence les conditions de l'expérience et les paramètres entrés dans la simulation pour obtenir un profil de Monte-Carlo proche du profil acousto-optique expérimental.

Paramètres	Expérience	Simulation
$\mu_a$	$\leq 0,1 \text{ cm}^{-1}$	$0,2 \text{ cm}^{-1}$
$\mu'_s$	$10 \text{ cm}^{-1}$	$12 \text{ cm}^{-1}$
$\mu'_a$	$2,1 \text{ cm}^{-1}$	$2,86 \text{ cm}^{-1}$
Rayon faisceau	$2,5 \text{ mm}$	$2,5 \text{ mm}$
Taille inclusion $(x \times y \times z)$	$2,7 \times 2,7 \times 5,7 \text{ mm}^3$	$2,8 \times 2,8 \times 5,8 \text{ mm}^3$
Taille zone de marquage $(x \times y \times z)$	$1,5 \times 1,5 \times 1,5 \text{ mm}^3$	$1,5 \times 1,5 \times 1,5 \text{ mm}^3$

Les paramètres ayant servi à la simulation de Monte-Carlo sont ensuite utilisés pour calculer le profil acousto-optique de manière analytique avec les égalités 5.25 et 5.27. Les trois courbes sont rassemblées sur la figure 5.7.



**Figure 5.7** – Comparaison d'un profil axial acousto-optique expérimental avec la simulation de Monte-Carlo et le modèle théorique.

Le modèle théorique n'est pas en accord avec l'expérience au niveau de l'inclusion. Les principales raisons possibles à cette divergence sont une taille d'inclusion absorbante trop grande par rapport à l'épaisseur de l'échantillon et une distance trop petite entre la zone de marquage et l'absorbeur. Nous avons prévu de refaire une mesure expérimentale en choisissant des paramètres mieux adaptés aux approximations faites dans le calcul théorique. En particulier, l'inclusion sera plus petite (1 à 2 mm de diamètre) et le profil acousto-optique sera enregistré le long d'une ligne légèrement décalé du centre de l'inclusion.

Ce modèle basé sur le formalisme de diffusion, propose un calcul analytique du profil acousto-optique d'un petit absorbeur dans un échantillon diffusant épais. S'il est vérifié expérimentalement, il fournira un outil simple et rapide pour des calibrations ou études systématiques sur "fantômes" qui sont nécessaires, par exemple, pour les problématiques de mesure quantitative évoquées dans la section précédente.

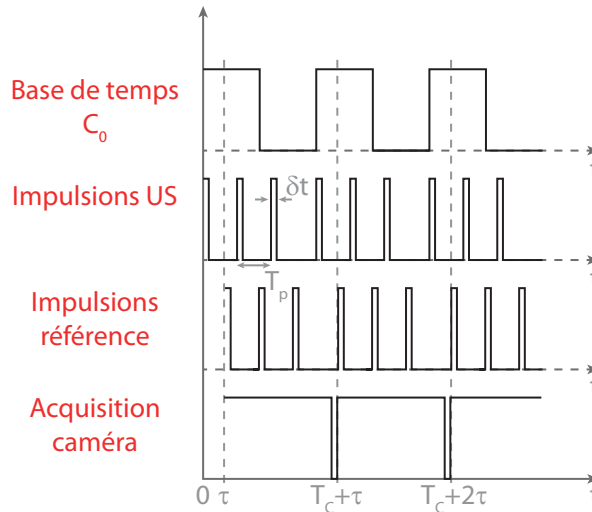


### 5.3 Comparaison des systèmes de détection pour l'imagerie acousto-optique

L'image de l'inclusion en forme de croix dans un gel diffusant du chapitre 2 ou les images des tissus tumoraux du chapitre 4 témoignent de la possibilité de faire des mesures acousto-optiques de qualité, indépendamment de la technique de détection choisie, à savoir l'holographie numérique ou photoréfractive. Bien que la détection par holographie numérique soit réputée plus sensible, en raison de son faible bruit de mesure réduit au bruit de photons de la référence, la tendance actuelle dans l'imagerie acousto-optique est plus à l'holographie photoréfractive, privilégiée pour la rapidité, la visualisation directe du signal sans traitement de données et l'imagerie ligne par ligne. La principale limitation de la détection par holographie numérique est son manque de rapidité, lié à des contraintes technologiques de capteur qui seront certainement vite dépassées étant donné le progrès et le renouvellement rapide existant en électronique. Par conséquent, cette limitation n'est pas un argument pour écarter définitivement la technique de détection par holographie numérique. Afin de mieux cerner les points forts et les points faibles des deux techniques, nous les comparons ici dans un cas d'imagerie de gel diffusant contenant une inclusion absorbante.

#### 5.3.1 Détection par holographie numérique en régime impulsionnel

Afin de reproduire les mêmes conditions de marquage ultrasonore pour les deux techniques de détection, le régime impulsionnel a été mis en place avec la détection par holographie numérique. Cette méthode d'amélioration de la résolution axiale, évoquée au chapitre 2, consiste à synchroniser l'impulsion ultrasonore et l'impulsion lumineuse pour qu'elles atteignent simultanément la zone à imager dans le milieu. Ces impulsions étant courtes, de l'ordre de la microseconde, la zone d'imagerie est de taille millimétrique.



**Figure 5.8** – Chronogramme décrivant le réglage du régime impulsionnel en holographie numérique.  $\tau$  est le retard fixé entre les ultrasons et la référence pour imager une zone précise de taille  $c \delta t$ ,  $T_C$  est la période d'acquisition de la caméra,  $T_p$  est la durée entre chaque impulsion.

Le régime impulsionnel est intégré au montage de TAOC présenté au chapitre 2 sur la figure 2.9. Il nécessite seulement quelques ajustements au niveau de l'utilisation des générateurs de signaux consacrés à la création des motifs aléatoires. Les motifs aléatoires sont remplacés par des impulsions de largeur  $\Delta t$  et de période  $T_p$ .  $\Delta t$  est déterminée en fonction de la résolution axiale souhaitée et  $T_p$  est choisie suffisamment longue pour laisser le temps à une impulsion ultrasonore

de quitter l'échantillon avant que la suivante atteigne la zone visée. Le temps d'acquisition  $T_C$  étant généralement supérieur à  $T_p$ , une image prise par la caméra correspond au signal acousto-optique moyenné sur quelques impulsions.

La principale difficulté de la mise en œuvre du régime impulsionnel vient de la gestion des déclenchements et des retards. Le chronogramme 5.8 résume la stratégie adoptée à ce sujet. Un signal TTL de période  $T_C$ , noté  $C_0$ , sert de base de temps à un générateur de délai et permet également d'imposer à la caméra, au démarrage de l'expérience, la cadence  $f_C = 1/T_C$ . Chaque front montant de  $C_0$  déclenche le signal impulsionnel destiné à piloter l'excitation ultrasonore après multiplication par la sinusoïde à  $f_{US}$  et passage par l'amplificateur de puissance. Le signal impulsionnel fenêtrant le faisceau de référence, par l'intermédiaire du modulateur acousto-optique MAO2, est déclenché un temps  $\tau$  après les fronts montants de  $C_0$ , cette durée correspondant au temps de propagation de l'onde acoustique jusqu'à la zone ciblée dans l'échantillon. La prise d'image est initialisée au même instant et se poursuit grâce à un déclenchement interne à la caméra de période  $T_C$ .

### 5.3.2 Configuration des autres techniques et conditions expérimentales

L'objectif est de comparer les performances de la détection par holographie photoréfractive et par holographie numérique en régime impulsionnel. Cependant, comme il est simple de passer du régime impulsionnel à la technique de modulation de phase aléatoire, nous profitons de cette expérience pour comparer également les deux méthodes de contrôle de la résolution axiale en détection par holographie numérique.

**TAOC à longues impulsions** Lorsque nous avons présenté la TAOC en détection par holographie numérique au chapitre 2, les ultrasons et la lumière étaient envoyés en continu dans le milieu. D'une part ce mode de fonctionnement ne répond pas aux normes médicales et d'autre part, il est susceptible de dégrader les performances de nos transducteurs ultrasonores qui ne sont pas prévus pour une utilisation continue. Il est donc préférable de limiter la durée de l'insonification et d'insérer, par la même occasion, des temps de pause pour le transducteur.

La durée d'insonification et de mise en fonctionnement du faisceau de référence est donc fixée à environ 1 *ms*, ce qui laisse le temps d'acquérir quatre images pour la détection 4 phases, en choisissant bien la cadence de la caméra. Puis, afin de respecter un rapport cyclique maximum de 20%, préconisé pour les transducteurs, le système est mis en pause pendant 4 *ms*. Un générateur de délai est utilisé pour déclencher le système toutes les 5 *ms* en commençant par le générateur de signaux produisant le motif de phase aléatoire pour les ultrasons. Ensuite, avec un retard  $\tau$ , il déclenche simultanément le générateur de signaux responsable de la modulation de phase du faisceau de référence et la caméra. Le motif aléatoire est créé avec un nombre de points défini pour qu'il ne dure qu'1 *ms*.

**IAORT** La détection par holographie photoréfractive est réalisée dynamiquement en régime impulsionnel sur cristal de SPS:Te selon la technique IAORT détaillée au chapitre 3.

**Conditions de mesure** L'échantillon imagé est un gel diffusant d'agar et d'Intralipide de 4 *cm* d'épaisseur contenant, en son centre, une inclusion absorbante de taille  $3 \times 3 \times 6 \text{ mm}^3$  dans les directions  $x$ ,  $y$  (axe des ultrasons) et  $z$  (axe de la lumière). L'éclairement reste constant pour les trois techniques de détection et vaut  $3 \text{ W.cm}^{-2}$ . Le transducteur acoustique mono-élément utilisé

fonctionne à 2,3 MHz et focalise à une distance de 78 mm. La résolution axiale est fixée à 2,6 mm en choisissant  $\delta t = 1,75 \mu s$  (4 cycles ultrasonores) comme largeur de l'impulsion ou comme période de saut de bascule sur le motif aléatoire de phase. La détection par holographie numérique est réalisée en 4 phases sur la caméra fonctionnant à  $f_C = 4 \text{ kHz}$  avec une résolution de  $512 \times 512$  pixels.

Pour comparer les deux techniques de résolution axiale pour une même détection par holographie numérique, la mesure obtenue en régime impulsionnel est prise comme référence et deux paramètres sont modifiés pour obtenir le même niveau de signal avec la TAOC : le nombre de moyennages c'est-à-dire le flux total collecté, et la tension appliquée à l'amplificateur ultrasonore qui commande la pression acoustique dans la zone de marquage ultrasonore.

La comparaison est moins directe entre l'holographie numérique et l'holographie photoréfractive en régime impulsionnel car les détecteurs et les signaux enregistrés sont différents. La comparaison consiste à reproduire avec l'holographie photoréfractive la même tension sur l'amplificateur acoustique et le même nombre de moyennages que pour l'holographie numérique.

### 5.3.3 Comparaison des performances sur un gel test

Les profils obtenus le long d'une ligne intersectant l'inclusion absorbante sont représentés sur la figure 5.9. Les profils (a) et (b) enregistrés par holographie numérique respectivement avec les phases aléatoires et en régime impulsionnel, ont, comme prévu, la même amplitude. Le niveau de bruit, assimilé à l'écart des points expérimentaux au profil moyen, est également identique et vaut 5% du signal maximal. Par conséquent, ces deux profils présentent un rapport signal à bruit de 20. Le tableau ci-dessous confronte les conditions de marquage ultrasonore dans les deux expériences.

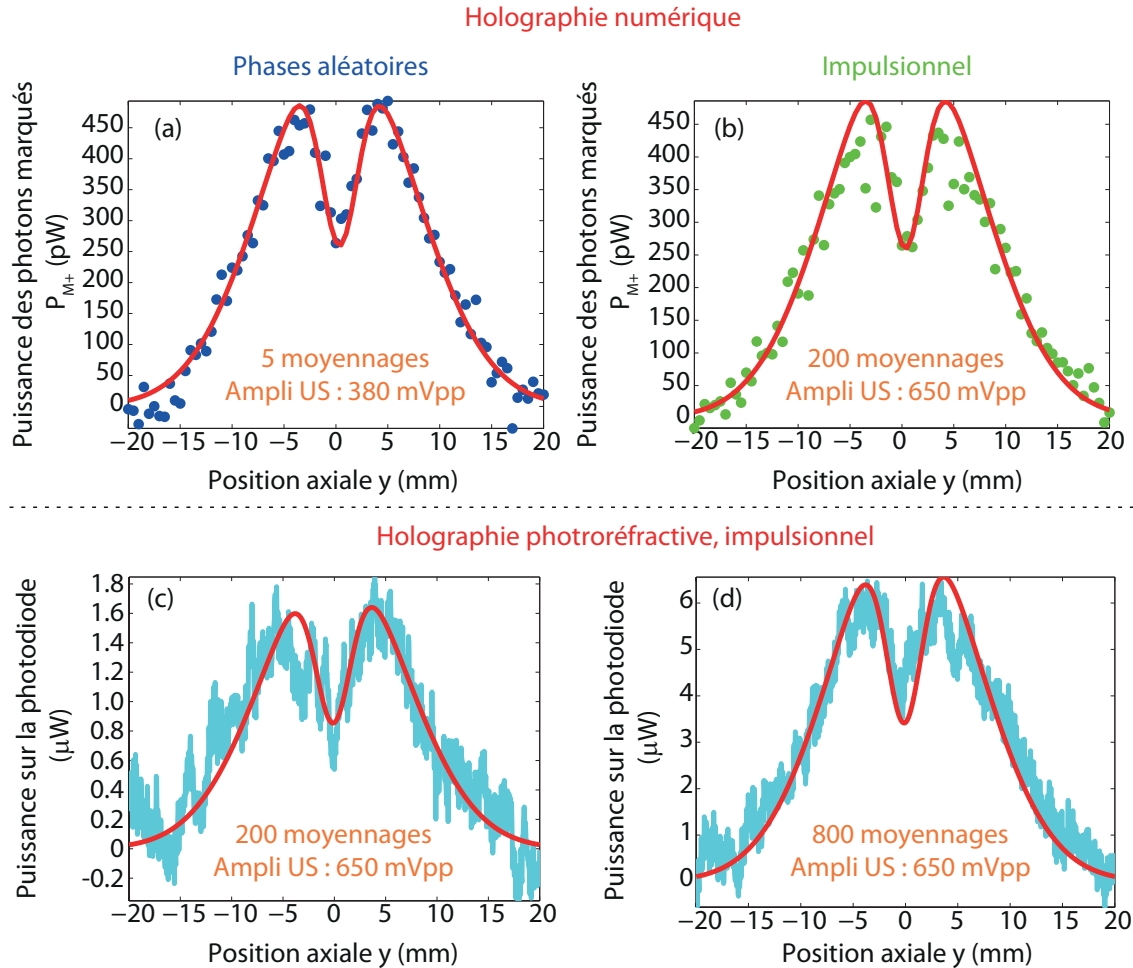
	$N_m$	$U_{ampli}$	$T_{expo}$	$c_{tag} = N_m U_{ampli}^2 T_{expo}$
Profil (a)	5	380 mV <sub>pp</sub>	$\frac{1}{f_C} = 0,250 \text{ ms}$	$180.10^3 \text{ mV}_{pp}^2 \cdot \text{ms}$
Profil (b)	200	650 mV <sub>pp</sub>	$\delta t = 1,75.10^{-3} \text{ ms}$	$148.10^3 \text{ mV}_{pp}^2 \cdot \text{ms}$

Elles comprennent le nombre de moyennages  $N_m$ , la tension d'alimentation de l'amplificateur de puissance du transducteur acoustique  $U_{ampli}$ , ainsi que le temps d'exposition aux ultrasons par acquisition  $T_{expo}$ . La pression acoustique au foyer est proportionnelle à  $U_{ampli}$  car l'amplificateur est utilisé dans son régime linéaire, et pour les faibles pressions, la quantité de photons marqués varie comme la pression acoustique au carré. Ainsi, le produit  $c_{tag} = N_m U_{ampli}^2 T_{expo}$ , nommé coefficient de marquage, constitue un indicateur de la quantité de photons marqués dans chaque expérience.

Bien que les amplitudes des profils (a) et (b) soient identiques, leurs coefficients de marquage présumés sont différents, celui obtenu en modulation de phase aléatoire étant supérieur à celui obtenu en régime impulsionnel de 20%. Cette différence suppose que les conditions de marquage dans le cas de la modulation de phase aléatoire ont été surestimées. Une explication possible est que l'excitation sinusoïdale modulée aléatoirement en phase amène des discontinuités susceptibles de réduire la valeur moyenne de la tension appliquée à l'amplificateur de puissance et de dilapider de l'énergie dans des composantes fréquentielles situées en dehors de la bande passante du transducteur.

En détection par holographie numérique, les méthodes de contrôle de la résolution axiale par modulation de phase aléatoire ou en régime impulsionnel fournissent donc la même qualité de signal, en matière de rapport signal à bruit et de contraste de l'inclusion, pour une mesure de même amplitude. En revanche, pour atteindre ce même niveau de signal enregistré, il est nécessaire de

multiplier par 40 le nombre de moyennages en régime impulsif, ce qui implique un temps de mesure plus long. L'acquisition prend 1 à 2 minutes dans les deux cas mais le transfert des images entre la caméra et l'ordinateur dure 10 minutes en régime impulsif, contre 2 minutes avec les phases aléatoires puisque la quantité d'images enregistrées est moindre. Enfin, le traitement des données pour l'obtention du profil acousto-optique est réalisé en 20 minutes pour le régime impulsif contre 1 minute avec les phases aléatoires. Par conséquent, notre préférence va vers la TAOC dans la mesure où le matériel se prête à la réalisation d'impulsions longues.



**Figure 5.9** – Comparaison du profil acousto-optique d'une inclusion absorbante obtenu avec plusieurs systèmes de détection interférométrique : (a) holographie numérique avec modulation de phase aléatoire, (b) holographie numérique en régime impulsif, (c-d) holographie photoréfractive en régime impulsif. Sur chaque profil sont indiqués le nombre de moyennages et la tension d'alimentation appliquée à l'amplificateur de puissance du transducteur acoustique.

Pour ce qui est de la comparaison entre la détection par holographie numérique et par holographie photoréfractive, il faut être vigilant sur la quantité portée en ordonnée sur chaque profil. En effet, pour les profils obtenus par holographie numérique, la puissance des photons marqués  $P_{M+}$  a été calculée à partir de la méthode détaillée dans la première partie du chapitre 2. En revanche, pour les profils enregistrés en détection par holographie photoréfractive, la puissance totale reçue par la photodiode est représentée. Avec cette technique, nous détectons bien la variation de signal induite par la création de photons marqués mais après amplification par le mélange à deux ondes dans le cristal de SPS. En conséquence, pour estimer l'ordre de grandeur des photons marqués, il faut diviser la puissance totale reçue par la photodiode par le gain d'amplification  $g \simeq 30$ , évalué au chapitre 3. Ainsi, le profil (c) réalisé en détection par holographie photoréfractive dans les

mêmes conditions de marquage acoustique que le profil (b) a un maximum d'environ  $1,6 \mu W$ , ce qui correspond à une puissance de photons marqués détectée d'environ  $50 nW$ , contre  $500 pW$  sur le profil issu de la détection par holographie numérique, soit 100 fois moins. Cet écart de niveau de signal est probablement lié à la qualité de la collection de lumière. Celle-ci est meilleure avec la technique photoréfractive car l'adaptation de front d'onde permet d'adresser une plus grande quantité de grains de speckle que l'échantillonnage sur une caméra au nombre de pixels limité en holographie numérique. De plus, pour assurer un bon échantillonnage du speckle sur la caméra, une distance relativement grande, de quelques dizaines de centimètres, est imposée entre l'échantillon et la matrice de capteurs ce qui limite l'étendue géométrique de détection. La courbe expérimentale (c) est plus bruitée, avec 12% d'écart au profil moyen, malgré un signal global détecté plus fort.

Pour atteindre avec l'holographie photoréfractive le rapport signal à bruit de 20 obtenu en holographie numérique, nous avons dû multiplier le nombre de moyennages par 4. Le résultat de cette mesure est la courbe (d) de la figure 5.9. Le maximum de puissance reçue par la photodiode est de  $6,4 \mu W$ , soit un niveau de photons marqués estimé à  $200 nW$ , qui s'avère 400 fois supérieur à l'amplitude des profils (a) et (b).

En conclusion de cette comparaison, à conditions de marquage acoustique égales (profils (b) et (c) de la figure 5.9), la détection par holographie numérique semble plus sensible dans la mesure où la précision du profil acousto-optique est meilleure pour un niveau de photons marqués détecté pourtant plus faible. Une sensibilité équivalente peut être atteinte en holographie photoréfractive en moyennant davantage. En ce qui concerne la rapidité, même en moyennant sur un plus grand nombre d'acquisitions, la possibilité d'imager une ligne de l'échantillon dans le temps de propagation d'une impulsion ultrasonore donne l'avantage à l'holographie photoréfractive en temps total d'imagerie, incluant l'acquisition, l'enregistrement et le traitement des données. À titre d'exemple, le profil (d) est mesuré et affiché en 1 à 5 secondes alors que le profil (a) l'est en 5 minutes.

### 5.3.4 Conclusion

Ce chapitre fait la synthèse de notre savoir-faire en imagerie acousto-optique à travers la comparaison des trois techniques de détection et propose une nouvelle direction de développement pour l'imagerie acousto-optique vers la caractérisation quantitative des propriétés optiques des tissus pour l'imagerie fonctionnelle. Malgré une préférence pour la détection du signal acousto-optique par holographie photoréfractive, qui est, aujourd'hui, la plus rapide, les trois techniques que nous avons comparées ont des performances équivalentes et méritent d'être développées et approfondies. Notre approche de l'imagerie acousto-optique quantitative se réduit ici à la mesure de coefficients d'absorption. Cependant, l'imagerie acousto-optique présente l'avantage d'être également sensible aux contrastes de diffusion contrairement à d'autres systèmes tels que l'imagerie photo-acoustique [57]. En effet, dans un gel diffusant, la présence d'une inclusion plus diffusante que le reste du gel entraîne une chute localisée du signal acousto-optique. Kothapalli et al. ont également observé qu'une inclusion moins diffusante que le reste du gel se manifeste par une hausse localisée du signal acousto-optique, c'est-à-dire une petite bosse sur l'enveloppe de la tache de diffusion [57]. Il est donc envisageable d'effectuer des mesures quantitatives du coefficient de diffusion par imagerie acousto-optique, en s'appuyant sur la modélisation pour mieux comprendre l'effet d'un contraste de diffusion sur la répartition de la lumière.





---

## Conclusions et perspectives

---

L'imagerie acousto-optique est une technique d'imagerie de la lumière diffuse qui bénéficie d'une meilleure résolution que la spectroscopie proche infrarouge grâce à une localisation affinée par les ultrasons. Toutefois, elle ne prétend pas à la résolution submicrométrique des techniques balistiques mais vise à distinguer des contrastes optiques sur l'échelle du millimètre pour pouvoir détecter des tumeurs précoces. Cette technique est basée sur l'effet acousto-optique qui induit une modulation de la lumière ayant traversé le foyer acoustique à la fréquence des ultrasons. L'enjeu de l'imagerie acousto-optique est de détecter ce signal modulé et surtout de le séparer de la composante continue bien plus intense.

Alors qu'il existe des techniques de détection insensibles aux propriétés de cohérence spatiale et temporelle du signal acousto-optique telles que le filtrage par *holeburning* spectral ou par interféromètre de Fabry-Perot, nous utilisons des techniques holographiques pour lesquelles le speckle et sa stabilité ont leur importance. Ainsi, pour remédier au manque de cohérence spatiale du champ speckle issu d'un milieu diffusant épais, plusieurs grains de speckle sont enregistrés en parallèle indépendamment dans le cas de l'holographie hétérodyne hors axe sur caméra, et dans le cas de la détection sur cristal photoréfractif de SPS, l'adaptation de front d'onde inhérente au processus de relecture de l'hologramme par la référence permet de retrouver la cohérence.

La résolution de l'imagerie acousto-optique est régie par les caractéristiques de l'onde acoustique. L'utilisation d'un faisceau ultrasonore focalisé garantit une résolution latérale millimétrique dans les conditions d'ouverture de nos transducteurs et à des fréquences entre 2 et 8 MHz. En revanche, la résolution axiale n'est pas acquise et est obtenue à l'aide de modulations de l'excitation acoustique et/ou de la lumière. Trois méthodes d'amélioration de la résolution axiale ont été présentées dans la thèse. D'abord la modulation de phase aléatoire du bras de référence optique et des ultrasons est décrite en couplage avec la détection numérique. Elle est adaptée à un enregistrement du signal acousto-optique sur de longues impulsions (1 ms) permettant d'optimiser le temps de l'imagerie sur la durée maximale d'exposition aux ultrasons définie par les normes médicales. Nous avons également exposé la méthode impulsionnelle sous deux formes. Quand elle est appliquée à la détection des photons non marqués par holographie photoréfractive, seuls les ultrasons prennent la forme de courtes impulsions ( $\mu s$ ), alors que l'association avec la détection par holographie numérique nécessite que les impulsions soient appliquées à la référence et aux ultrasons. Les images de gels diffusants contenant des inclusions absorbantes millimétriques témoignent de la bonne résolution obtenue dans les trois configurations expérimentales.

Une variante de l'holographie photoréfractive, pratiquée sans référence sur un cristal de BSO, a été introduite. Elle permet d'exécuter l'imagerie acousto-optique avec une qualité de signal comparable à la détection photoréfractive standard mais une rapidité moindre car le temps de réponse du cristal est allongé du fait de son éclaircissement réduit en l'absence de référence. Cette

nouvelle solution de détection est intéressante en matière d'encombrement car la suppression des bruits parasites liés à la référence réduit les contraintes de positionnement des éléments optiques en sortie de l'échantillon (lentilles, cristal, détecteur).

Parmi les différents systèmes d'imagerie acousto-optique évoqués, le système IAORT, couplant holographie photoréfractive sur cristal de SPS et régime impulsif pour la résolution, est le plus simple d'utilisation car il permet une visualisation dynamique du signal acousto-optique par ligne et met en jeu une quantité de données réduite par rapport aux images constituées d'un million de pixels prises par la caméra. Notre choix s'est donc porté sur ce système pour réaliser des essais d'imagerie sur des tissus encore jamais considérés en acousto-optique, à savoir des tumeurs du colon ectopiques chez la souris et des biopsies de foie humain contenant des métastases. La technique acousto-optique fait appel à une onde acoustique focalisée ce qui donne inévitablement l'idée d'un rapprochement avec l'échographie. Nous avons ainsi mis au point une imagerie multi-modale réunissant le système IAORT et un échographe-élastographe Aixplorer®, commercialisé par la société Supersonic Imagine et dont nous disposons de versions programmables au laboratoire. Les expériences d'imagerie effectuées *ex vivo* sur les tissus biologiques mentionnés précédemment avec cet appareil multi-modal ont non seulement révélé le potentiel d'imagerie de la technique acousto-optique sur ce type de tissu mais ont aussi souligné sa complémentarité avec les techniques ultrasonores. En particulier la détection de métastases dans les biopsies de foie par contraste optique est un succès pour l'imagerie acousto-optique alors qu'elle est impossible en échographie.

Nous avons également montré que l'imagerie acousto-optique est une technique efficace de suivi de la création d'une lésion thermique, dont l'application est immédiate en médecine où la nécrose de cellules sur une zone délimitée, comme une tumeur, est couramment pratiquée par chauffage thermique induit par un faisceau acoustique ou lumineux focalisé de haute intensité.

Enfin, nous avons apporté la preuve qu'il est possible de rendre l'imagerie acousto-optique quantitative c'est-à-dire de déduire des mesures une valeur absolue des coefficients d'absorption et de diffusion du milieu. Cependant, il reste à définir une méthode systématique de mesure quantitative en s'aidant de modèles de validation tels que celui proposé par nos collègues théoriciens fondé sur un calcul analytique du profil acousto-optique. Nous avons également réalisé une comparaison des systèmes de détection basée sur l'étude du profil axial acousto-optique d'un gel diffusant contenant une inclusion dans les différentes configurations. La comparaison reste assez sommaire dans la mesure où elle s'appuie sur une unique expérience et mériterait d'être répétée sur plusieurs réalisations pour confirmer la tendance.

L'avenir souhaité pour l'imagerie acousto-optique étant son déploiement dans les hôpitaux, plusieurs améliorations sont en perspective. La principale limitation de nos systèmes d'imagerie acousto-optique est la rapidité. Sur ce plan, la technique de détection par holographie numérique est désavantagée car elle se fait point par point et non par ligne comme l'holographie photoréfractive, avec une pause nécessaire entre chaque point de mesure pour modifier le retard imposé entre l'onde ultrasonore et la référence et déplacer ainsi la zone sondée. Ce temps passé en communication entre l'ordinateur et les générateurs de signaux paraît difficilement réductible à moins d'enregistrer à l'avance une séquence prévoyant l'enchaînement des différents retards ainsi que le nombre de moyennages par point. En revanche, le temps de transfert et de traitement des données peut être réduit avec l'utilisation de capteurs intelligents comme ceux que développe Timothé Laforest dans le cadre de sa thèse au CEA-LETI et que nous prévoyons de tester à leur fabrication. En intégrant des fonctionnalités de calcul directement sur la puce, ces capteurs permettraient de réduire la taille des données à transférer et à manipuler lors du traitement.

En ce qui concerne la détection par holographie photoréfractive, l'amélioration de la rapidité est tributaire du cristal et des conditions dans lesquelles il est utilisé (éclairage incident, champ électrique appliqué). Bien que le cristal de SPS:Te offre un gain intéressant en mélange à deux ondes et l'opportunité d'imager dans la fenêtre thérapeutique optique, son temps de réponse supérieur à la milliseconde risque de poser problème pour l'imagerie *in vivo*. Il est donc nécessaire d'étudier l'efficacité d'autres types de matériaux comme les milieux à gain (Nd:YVO<sub>4</sub>). Au niveau du couplage de l'IAORT avec l'Aixplorer<sup>®</sup>, l'orientation actuelle de nos travaux pour optimiser le temps d'acquisition est de grouper l'ensemble des commandes au niveau de l'échographe plutôt que d'avoir un ordinateur séparé pour gérer le système acousto-optique. Une meilleure programmation de la sonde échographique définissant la séquence ultrasonore pour le marquage acousto-optique est également à l'étude.

Une deuxième voie de développement permettant de tendre vers un appareil médical est de rendre le système plus portable, ou à défaut, d'y inclure la possibilité de déporter la mesure. Ce projet nécessite d'utiliser des fibres optiques ce qui peut introduire des pertes d'énergie et de cohérence dans le montage. La mise en place de fibres facilite la réalisation d'une détection en rétro-diffusion. La maîtrise de cette configuration est indispensable pour pouvoir imager le plus d'organes possible, même s'ils sont difficiles d'accès comme le foie. Le savoir-faire de notre équipe dans cet axe d'étude est à développer pour surmonter les problèmes de réflexion spéculaire par exemple ou la perte de signal due au dédoublement du trajet en réflexion par rapport à la transmission.

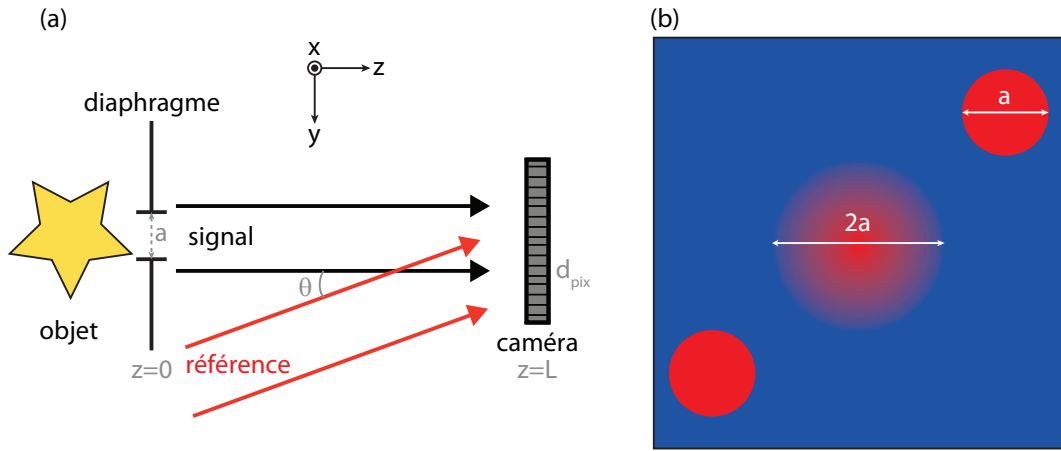
Les perspectives de l'imagerie acousto-optique sont également de diversifier ses fonctionnalités en continuant à travailler sur l'aspect quantitatif de la mesure et en mettant en œuvre un système spectroscopique à longueurs d'onde multiples.

Enfin, la reconnaissance de la technique acousto-optique au sein de la communauté médicale nécessite de multiplier les essais d'imagerie sur des tissus représentatifs de pathologies réelles.



## Réglage du montage d'holographie numérique hors axe

Pour optimiser le filtrage spatio-temporel en holographie numérique hors axe, l'angle  $\theta$  entre les faisceaux objet et référence, l'ouverture du diaphragme  $a$  et la distance  $L$  entre l'objet et la caméra doivent être choisis avec attention. Ces trois paramètres, illustrés par le schéma A.1(a), influent sur l'échantillonnage de l'information contenue dans les grains de speckle et sur la distance séparant les ordres sur le spectre de l'hologramme.



**Figure A.1** – (a) Paramètres mis en jeu en holographie numérique hors axe. (b) Spectre d'hologramme schématisé pour une pupille circulaire de diamètre  $a$ .

### Choix de $a$ et $L$

La taille  $d_s$  d'un grain de speckle dépend de la longueur d'onde  $\lambda$ , de la distance entre l'objet et la caméra  $L$ , et de la taille de la source délimitée par le diaphragme, de diamètre  $a$  pour une pupille circulaire ou de plus grande dimension  $a$  pour une pupille rectangulaire, selon la relation suivante :

$$d_s = \frac{\lambda L}{a} \quad (\text{A.1})$$

Pour échantillonner correctement l'information d'un grain de speckle, sa taille doit être supérieure à deux pixels, de côté  $d_{pix}$ . Pour une taille de pupille donnée, cette contrainte se traduit par

la condition suivante sur  $L$  :

$$L \geq \frac{2 a d_{pix}}{\lambda} \quad (\text{A.2})$$

Par exemple, pour une ouverture de diaphragme  $a = 5 \text{ mm}$ , une taille de pixel  $d_{pix} = 20 \text{ }\mu\text{m}$  (caméra *Photron SA<sub>4</sub>*) et à  $\lambda = 780 \text{ nm}$ , la condition A.2 devient :

$$L \geq 26 \text{ cm}$$

Si au contraire  $L$  est fixée mais  $a$  est variable, la condition concerne  $a$  et devient :

$$a \leq \frac{\lambda L}{2d_{pix}} \quad (\text{A.3})$$

Numériquement, si  $L = 40 \text{ cm}$ ,  $d_{pix} = 20 \text{ }\mu\text{m}$  et  $\lambda = 780 \text{ nm}$  :

$$a \leq 8 \text{ mm}$$

## Choix de $\theta$

L'introduction d'un angle  $\theta$  entre le faisceau signal et la référence induit une modulation sinusoïdale de l'intensité d'un grain de speckle, dont la période spatiale vaut  $\frac{\lambda}{\theta}$  dans l'approximation des petits angles. Pour un bon échantillonnage, cet interfrange doit être deux fois plus grand que la période d'échantillonnage de la caméra, à savoir la taille d'un pixel. Cette condition impose une valeur maximum pour l'angle  $\theta$  telle que :

$$\theta \leq \frac{\lambda}{2d_{pix}} \quad (\text{A.4})$$

L'approximation  $\sin(\theta) \simeq \theta$  a été faite en supposant  $\theta \ll 1$ .

L'angle  $\theta$  détermine également la distance entre les ordres sur le spectre de l'hologramme, dans le domaine de Fourier. Comme schématisé sur la figure A.1(b), dans le cas d'une pupille circulaire, l'ordre 0, c'est-à-dire la tache centrale du spectre, s'étend sur une largeur égale au double de l'ouverture du diaphragme, soit  $2a$  alors que les ordres 1 et -1 ont un diamètre égal à  $a$ . Ainsi pour séparer correctement les ordres, la distance entre les centres de l'ordre 0 et de l'ordre  $\pm 1$  doit être supérieure à  $3a/2$ . Cette distance minimale requise se traduit par l'existence d'une borne inférieure pour  $\theta$  telle que :

$$\theta \geq \frac{3 a}{2 L} \quad (\text{A.5})$$

Avec  $L = 40 \text{ cm}$ ,  $a = 5 \text{ mm}$ ,  $d_{pix} = 20 \text{ }\mu\text{m}$  et  $\lambda = 780 \text{ nm}$ ,  $\theta$  obéit à l'encadrement suivant :

$$1^\circ \leq \theta \leq 1,1^\circ$$

Ces deux conditions imposent donc une fenêtre très étroite pour  $\theta$ . En pratique l'angle  $\theta$  est difficilement mesurable sur le montage optique mais est réglé par corrections successives de l'orientation de 2 miroirs présents sur le parcours du faisceau de référence après visualisation du spectre.



---

## Caractérisation de la caméra *Photron SA<sub>4</sub>*

---

Cette annexe présente une mesure expérimentale des performances de la caméra *Photron SA<sub>4</sub>* utilisée dans le montage d'imagerie acousto-optique en détection par holographie numérique, décrit au chapitre 2.

### Fond d'obscurité

En l'absence de lumière incidente sur la caméra, l'intensité moyenne d'une image n'est pas nulle. Il s'agit du fond d'obscurité qui vaut pour cette caméra 557 niveaux de gris (ndg) pour un échantillonnage sur 12 bits, c'est-à-dire 4096 niveaux de gris.

### Sensibilité

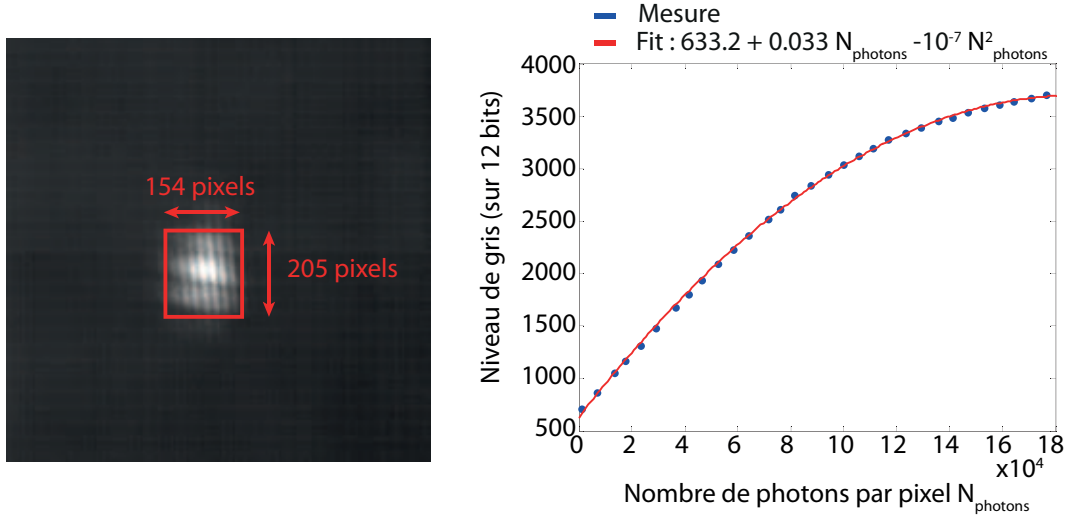
La mesure de sensibilité consiste à déterminer le taux de conversion  $\alpha_{ndg-photon}$  entre un niveau de gris affiché et un nombre de photons détecté par la caméra.

Une diode laser (*Sacher Lasertechnik*), dont le flux est atténué par une densité optique, éclaire la caméra à  $\lambda = 780 \text{ nm}$ . L'image B.1(a) enregistrée par la caméra montre que le faisceau laser n'occupe qu'une petite partie de la matrice de pixels et délimite la zone d'étude des performances. En admettant que la réponse de la caméra est uniforme sur l'ensemble du capteur, les performances mesurées sur la sous-matrice de pixels sont attribuées à la caméra entière.

La moyenne des pixels dans la zone d'étude est représentée en fonction du nombre de photons reçu par le détecteur, sur la figure B.1(b). Le nombre de photons est déduit de la mesure de la puissance incidente par un puissance-mètre ainsi que de la connaissance de la fréquence d'acquisition et de l'énergie d'un photon. Chaque image est moyennée 5 fois.

La sensibilité de la caméra est donnée par le terme linéaire de l'ajustement en polynôme d'ordre 2 tracé en rouge sur la figure B.1(b), et vaut 0,033. L'inverse de la sensibilité correspond au taux de conversion entre le niveau de gris et le nombre de photons, qui vaut donc :

$$\alpha_{ndg-photon}(\lambda = 780 \text{ nm}) = 30,3 \text{ photons/ndg} \quad (\text{B.1})$$



**Figure B.1** – (a) Image du faisceau laser sur la caméra. La zone d'étude des performances est délimitée en rouge. (b) Réponse de la caméra en fonction de la puissance incidente à  $\lambda = 780 \text{ nm}$ .

## Bruit de détection

Le bruit de détection exprimé en nombre de photo-électrons, d'écart-type  $\sigma_d$ , totalise plusieurs contributions :

- Le bruit électronique ou bruit d'obscurité caractérisé par l'écart-type  $\sigma_e$  ;
- Le bruit quantique ou bruit de grenaille dont la variance est égale au nombre de photo-électrons  $N_{e^-}$  :  $\sigma_g^2 = N_{e^-}$  ;
- Le bruit classique, proportionnel au flux incident tel que :  $\sigma_{cl} = N_{e^-}$ .

Comme ces bruits sont indépendants, la somme de leurs variances donne accès à la variance  $\sigma_d^2$  du bruit de détection :

$$\sigma_d^2 = \sigma_e^2 + \sigma_g^2 + \sigma_{cl}^2 \quad (\text{B.2})$$

Le coefficient  $\alpha_{e^- - ndg}$  permet de convertir le nombre d'électrons créés  $N_{e^-}$  en niveau de gris  $x$  affiché par la caméra suivant la relation  $x = \alpha_{e^- - ndg} N_{e^-}$ . Ainsi l'écart-type du bruit de détection exprimé en niveau de gris  $\sigma_x$  vaut :  $\sigma_x = \alpha_{e^- - ndg} \sigma_d$ .

La variance  $V_x = \sigma_x^2$  exprimée en niveau de gris de ce bruit s'écrit donc :

$$V_x = \alpha_{e^- - ndg}^2 \sigma_d^2 = V_e + \alpha_{e^- - ndg} x + \beta x^2 \quad (\text{B.3})$$

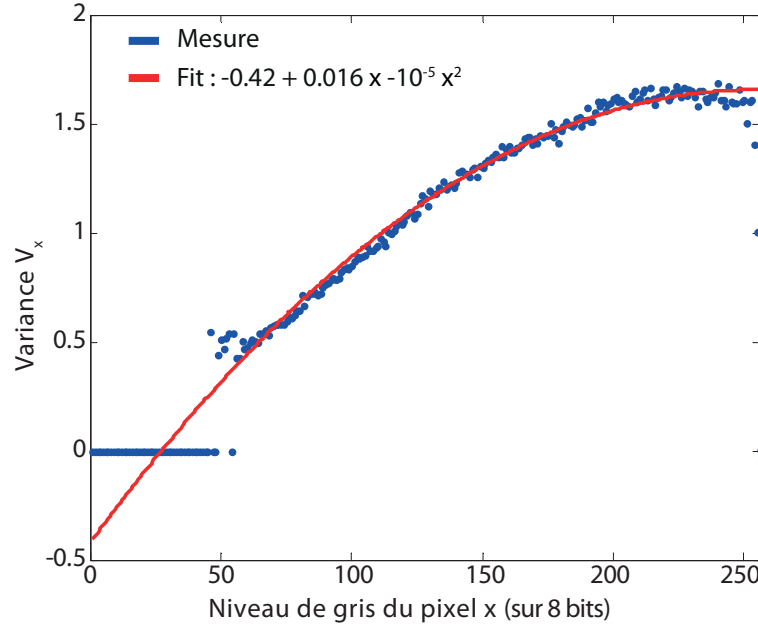
où  $V_e$ ,  $\beta$  sont des constantes. Cette égalité montre qu'il est possible de déterminer  $\alpha_{e^- - ndg}$  en réalisant un ajustement parabolique sur  $V_x$ .

En pratique, l'évaluation du coefficient  $\alpha_{e^- - ndg}$  commence par le choix d'une série de 50 images à puissance lumineuse constante où une grande partie des niveaux de gris est représentée. Pour chaque pixel, la valeur moyenne et la variance sur 50 images sont calculées. Pour les pixels ayant une même valeur moyenne arrondie à l'entier le plus proche, la moyenne de leurs variances est réalisée. Cette variance moyenne est représentée en fonction de la valeur moyenne du pixel sur la figure B.2, où un ajustement parabolique est tracé en rouge.

Sur la figure B.2, la valeur du pixel  $x$  est donnée sur 8 bits alors que la caméra échantillonne sur 12 bits car l'enregistrement des images sur l'ordinateur est paramétré ainsi. D'après l'ajustement correspondant à la courbe rouge de la figure B.2, le coefficient de conversion électrons-niveaux de gris en 8 bits vaut 0,016. Une fois ramené à 12 bits, il devient :

$$\alpha_{e^{-}-ndg}(\lambda = 780 \text{ nm}) = 0,26 \text{ ndg/électron} \quad (\text{B.4})$$

En prenant l'inverse de ce coefficient, un niveau de gris correspond à 4 photo-électrons. La dynamique de la caméra vaut 4096 niveaux de gris (12 bits) ce qui correspond à une accumulation de 16400 électrons par pixel.



**Figure B.2** – Variance du bruit en fonction de la valeur moyenne du pixel.

## Rendement quantique

Le rendement quantique de la caméra est défini par :

$$\eta(\lambda) = \frac{1}{\alpha_{ndg-photons} \alpha_{e^{-}-ndg}} \quad (\text{B.5})$$

Les mesures précédentes donnent donc :

$$\eta(\lambda = 780 \text{ nm}) = 13\% \quad (\text{B.6})$$



Cette annexe présente les normes de sécurité liées à une application biomédicale de l'optique et de l'acoustique visant à prévenir l'endommagement des tissus.

## Normes acoustiques

La référence dans le domaine acoustique est la norme de régulation américaine fixée par la FDA (*Food and Drug Administration*). Afin de limiter l'ampleur des effets thermiques ou mécaniques (cavitation, pression de radiation acoustique) pouvant altérer les tissus, deux critères doivent être respectés simultanément :

- La puissance acoustique moyenne doit être inférieure à la valeur seuil  $I_{SPTA}$ .
- La puissance crête acoustique doit être inférieure à  $I_{SPPA}$  ou l'index mécanique  $MI$  doit être inférieur à la valeur seuil  $MI_S$ .

L'index mécanique est défini par :

$$MI = \frac{PNP}{\sqrt{f_C}} \quad (C.1)$$

où  $PNP$  est le pic de pression négative en  $MPa$  et  $f_C$  est la fréquence centrale d'émission acoustique. Les valeurs seuils varient selon les tissus insonifiés et sont récapitulées dans le tableau ci-dessous.

Application	$I_{SPTA}$ ( $mW.cm^{-2}$ )	$I_{SPPA}$ ( $mW.cm^{-2}$ )	$MI_S$
Vaisseaux périphériques	720	190	1,9
Cœur	430	190	1,9
Fœtus et petits organes	94	190	1,9
Œil	17	28	0,23

## Normes optiques

Les normes de sécurité présentées ici sont tirées du document NF EN 6085-1 de l'AFNOR (Association Française de Normalisation) datant de 1994. Elles font référence à la notion d'exposition maximale permise (EMP).

**Régime continu** Pour une durée d'exposition  $\Delta t$  supérieure à 10 s et pour une longueur d'onde  $\lambda$  entre 700 et 1400 nm, l'exposition maximale permise sur la peau est :

$$EMP_{peau,CW}(\lambda) = 200 C_4(\lambda) \text{ mW.cm}^{-2} \quad (\text{C.2})$$

où  $C_4$  est un facteur de correction qui dépend de la longueur d'onde défini par :

$$C_4 = \min(10^{0,002(\lambda-700)}; 5) \quad (\text{C.3})$$

La longueur d'onde  $\lambda$  est exprimée en nm.

La norme à  $\lambda = 780 \text{ nm}$  est :  $EMP_{peau,CW} \leq 290 \text{ mW.cm}^{-2}$ .

**Régime impulsionnel** Pour une durée d'exposition  $\Delta t$  comprise entre 0,1  $\mu\text{s}$  et 10 s et pour une longueur d'onde  $\lambda$  entre 700 et 1400 nm, l'exposition maximale permise sur la peau est :

$$EMP_{peau}(\lambda) = 1,1 C_4(\lambda) \Delta t^{0,25} \text{ J.cm}^{-2} \quad (\text{C.4})$$



- [1] R. Bright. *Diseases of the Brain and Nervous System*. Longman, London, 1831.
- [2] T. B. Curling. *A practical treatise on the diseases of the testis and of the spermatic cord and scrotum*. Samuel Highley, London, 1843.
- [3] M. Cutler. Transillumination as an aid in the diagnosis of breast lesions. *Surgery, Gynecology and Obstetrics*, 48 :721–729, 1929.
- [4] B. Monsees. Light scan evaluation of nonpalpable breast lesions. *Radiology*, 163 :467–470, 1987.
- [5] S. L. Jacques and S. A. Prahl. Introduction to biomedical optics. *Oregon Graduate Institute*, <http://omlc.ogi.edu/education/ece532>.
- [6] W.-F. Cheong, S. A. Prahl, and A. J. Welch. A review of the optical properties of biological tissues. *IEEE Journal of Quantum Electronics*, 26(12) :2166–2185, 1990.
- [7] V. V. Tuchin. *Tissue Optics : Light scattering methods and instruments for medical diagnosis*. SPIE Press, Washington, 2007.
- [8] F. F. Jöbsis. Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters. *Science*, 198(4323) :1264–1267, 1977.
- [9] O. Assayag, K. Grieve, B. Devaux, F. Harms, J. Pallud, F. Chretien, C. Boccarda, and P. Varlet. Imaging of non-tumorous and tumorous human brain tissues with full-field optical coherence tomography. *NeuroImage : Clinical*, 2 :549–557, January 2013.
- [10] I. Testa, N. T. Urban, S. Jakobs, C. Eggeling, K. I. Willig, and S. W. Hell. Nanoscopy of living brain slices with low light levels. *Neuron*, 75(6) :992–1000, September 2012.
- [11] Y. Yamashita, A. Mak, and H. Koizumi. Measurement system for noninvasive dynamic optical topography. *Journal of Biomedical Optics*, 4(4) :414–417, 1999.
- [12] M. A. Franceschini, S. Fantini, J. H. Thompson, J. P. Culver, and D. A. Boas. Hemodynamic evoked response of the sensorimotor cortex measured noninvasively with near-infrared optical imaging. *Psychophysiology*, 40(4) :548–60, July 2003.
- [13] D. J. Hawrysz and E. M. Sevick-Muraca. Developments toward diagnostic breast cancer imaging using near-infrared optical measurements and fluorescent contrast agents. *Neoplasia (New York, N.Y.)*, 2(5) :388–417, 2000.
- [14] D. Grosenick, H. Wabnitz, K. T. Moesta, J. Mucke, M. Möller, C. Stroszczynski, J. Stöbel, B. Wassermann, P. M. Schlag, and H. Rinneberg. Concentration and oxygen saturation of haemoglobin of 50 breast tumours determined by time-domain optical mammography. *Physics in Medicine and Biology*, 49(7) :1165–1181, April 2004.

- [15] D. A. Benaron, S. R. Hintz, A. Villringer, D. Boas, A. Kleinschmidt, J. Frahm, C. Hirth, H. Obrig, J. C. van Houten, E. L. Kermit, W. F. Cheong, and D. K. Stevenson. Noninvasive functional imaging of human brain using light. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 20(3) :469–77, March 2000.
- [16] M. Schweiger and S. R. Arridge. Application of temporal filters to time resolved data in optical tomography. *Physics in medicine and biology*, 44(7) :1699–717, July 1999.
- [17] J. J. Selb, J. J. Stott, M. A. Franceschini, and D. A. Boas. Improvement of depth sensitivity to cerebral hemodynamics with a time domain system. *OSA Biomedical Topical Meeting (Miami)*, FC(3).
- [18] S. R. Arridge, M. Cope, and D. T. Delpy. The theoretical basis for the determination of optical pathlengths in tissue : temporal and frequency analysis. *Physics in medicine and biology*, 37(7) :1531–60, July 1992.
- [19] W. Becker. *The bh TCSPC Handbook*. Becker & Hickl GmbH, Berlin, 2012.
- [20] J. R. Lakowicz. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Springer, Baltimore, 2006.
- [21] J. P. Culver, A. M. Siegel, J. J. Stott, and D. A. Boas. Volumetric diffuse optical tomography of brain activity. *Optics letters*, 28(21) :2061–3, November 2003.
- [22] J. C. Hebden, A. Gibson, R. Md Yusof, N. Everdell, E. M. C. Hillman, D. T. Delpy, S. R. Arridge, T. Austin, J. H. Meek, and J. S. Wyatt. Three-dimensional optical tomography of the premature infant brain. *Physics in medicine and biology*, 47(23) :4155–66, December 2002.
- [23] T. Durduran, R. Choe, J. P. Culver, L. Zubkov, M. J. Holboke, J. Giammarco, B. Chance, and A. G. Yodh. Bulk optical properties of healthy female breast tissue. *Physics in medicine and biology*, 47(16) :2847–61, August 2002.
- [24] E. M. Hillman, J. C. Hebden, M. Schweiger, H. Dehghani, F. E. Schmidt, D. T. Delpy, and S. R. Arridge. Time resolved optical tomography of the human forearm. *Physics in medicine and biology*, 46(4) :1117–30, April 2001.
- [25] X. Intes. Time-domain optical mammography SoftScan : initial results. *Academic radiology*, 12(8) :934–47, August 2005.
- [26] B. W. Zeff, B. R. White, H. Dehghani, B. L. Schlaggar, and J. P. Culver. Retinotopic mapping of adult human visual cortex with high-density diffuse optical tomography. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(29) :12169–74, July 2007.
- [27] D. A. Boas, K. Chen, D. Grebert, and M. A. Franceschini. Improving the diffuse optical imaging spatial resolution of the cerebral hemodynamic response to brain activation in humans. *Optics letters*, 29(13) :1506–8, July 2004.
- [28] A. Corlu, R. Choe, T. Durduran, M. A. Rosen, M. Schweiger, S. R. Arridge, M. D. Schnall, and A. G. Yodh. Three-dimensional in vivo fluorescence diffuse optical tomography of breast cancer in humans. *Optics express*, 15(11) :6696–716, May 2007.
- [29] A. Bratchenia, R. Molenaar, and R. P. H. Kooyman. Towards quantitative acousto-optic imaging in tissue. *Laser Physics*, 21(3) :601–607, February 2011.
- [30] M. Xu and L. Wang. Universal back-projection algorithm for photoacoustic computed tomography. *Physical Review E*, 71(1) :016706, January 2005.
- [31] R. J. Zemp, L. Song, R. Bitton, K. K. Shung, and L. V. Wang. Realtime photoacoustic microscopy in vivo with a 30-MHz ultrasound array transducer. *Optics express*, 16(11) :7915–28, May 2008.

- [32] H. F. Zhang, K. Maslov, G. Stoica, and L. V. Wang. Functional photoacoustic microscopy for high-resolution and noninvasive in vivo imaging. *Nature biotechnology*, 24(7) :848–51, July 2006.
- [33] C. A. Dimarzio, H. Avenue, and T. W. Murray. Medical imaging techniques combining light and ultrasound. *Subsurface Sensing Technologies and Applications*, 4(4) :289–309, 2003.
- [34] K. Maslov, H. F. Zhang, S. Hu, and L. V. Wang. Optical-resolution photoacoustic microscopy for in vivo imaging of single capillaries. *Optics letters*, 33(9) :929–31, May 2008.
- [35] G. Ku, X. Wang, X. Xie, G. Stoica, and L. V. Wang. Imaging of tumor angiogenesis in rat brains in vivo by photoacoustic tomography. *Applied optics*, 44(5) :770–5, February 2005.
- [36] K. H. Song and L. V. Wang. Deep reflection-mode photoacoustic imaging of biological tissue. *Journal of biomedical optics*, 12(6) :060503, 2007.
- [37] H. F. Zhang, K. Maslov, M. Sivaramakrishnan, G. Stoica, and L. V. Wang. Imaging of hemoglobin oxygen saturation variations in single vessels in vivo using photoacoustic microscopy. *Applied Physics Letters*, 90(5) :053901, 2007.
- [38] J. A. Copland, M. Eghtedari, V. L. Popov, N. Kotov, N. Mamedova, M. Motamedi, and A. A. Oraevsky. Bioconjugated gold nanoparticles as a molecular based contrast agent : implications for imaging of deep tumors using optoacoustic tomography. *Molecular imaging and biology*, 6(5) :341–9, 2004.
- [39] R. A. Kruger, W. L. Kiser, D. R. Reinecke, G. A. Kruger, and K. D. Miller. Thermoacoustic molecular imaging of small animals. *Molecular Imaging*, 2(2) :113–123, 2003.
- [40] N. C. Burton, M. Patel, S. Morscher, W. H. P. Driessen, J. Claussen, N. Beziere, T. Jetzfellner, A. Taruttis, D. Razansky, B. Bednar, and V. Ntziachristos. Multispectral optoacoustic tomography (MSOT) of the brain and glioblastoma characterization. *NeuroImage*, 65 :522–8, January 2013.
- [41] C. Kim, T. N. Erpelding, L. Jankovic, M. D. Pashley, and L. V. Wang. Deeply penetrating in vivo photoacoustic imaging using a clinical ultrasound array system. *Biomedical optics express*, 1(1) :278–284, January 2010.
- [42] S. Manohar, A. Kharine, J. C. G. van Hespén, W. Steenbergen, and T. G. Van Leeuwen. The Twente Photoacoustic Mammoscope : system overview and performance. *Physics in medicine and biology*, 50(11) :2543–57, June 2005.
- [43] S. Manohar, S. E. Vaartjes, J. C. G. van Hespén, J. M. Klaase, F. M. van den Engh, W. Steenbergen, and T. G. van Leeuwen. Initial results of in vivo non-invasive cancer imaging in the human breast using near-infrared photoacoustics. *Optics express*, 15(19) :12277–85, September 2007.
- [44] M. Heijblom, D. Piras, W. Xia, J. C. G. van Hespén, J. M. Klaase, F. M. van den Engh, T. G. van Leeuwen, W. Steenbergen, and S. Manohar. Visualizing breast cancer using the Twente photoacoustic mammoscope : what do we learn from twelve new patient measurements? *Optics express*, 20(11) :11582–97, May 2012.
- [45] D. Dolfi and F. Micheron. Procédé et système d’imagerie par transillumination à marquage en fréquence des photons, 1989.
- [46] F. A. Marks, H. W. Tomlinson, and G. W. Brooksby. Comprehensive approach to breast cancer detection using light : photon localization by ultrasound modulation and tissue characterization by spectral discrimination. *SPIE Proceedings*, 1888, 1993.
- [47] L. Wang, S. L. Jacques, and X. Zhao. Continuous-wave ultrasonic modulation of scattered laser light to image objects in turbid media. *Optics letters*, 20(6) :629–31, March 1995.

- [48] W. Leutz and G. Maret. Ultrasonic modulation of multiply scattered light. *Physica B*, 204(1-4) :14–19, 1995.
- [49] D. S. Elson, R. Li, C. Dunsby, R. Eckersley, and M.-X. Tang. Ultrasound-mediated optical tomography : a review of current methods. *Interface Focus*, 1(4) :632–648, June 2011.
- [50] G. D. Mahan, W. E. Engler, J. J. Tiemann, and E. Uzgiris. Ultrasonic tagging of light : theory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(24) :14015–9, November 1998.
- [51] M. Kobayashi, T. Mizumoto, Y. Shibuya, M. Enomoto, and M. Takeda. Fluorescence tomography in turbid media based on acousto-optic modulation imaging. *Applied Physics Letters*, 89(18) :181102, 2006.
- [52] V. F. Humphrey. Ultrasound and matter–physical interactions. *Progress in biophysics and molecular biology*, 93(1-3) :195–211, 2007.
- [53] M. Kempe, M. Larionov, D. Zaslavsky, and A. Z. Genack. Acousto-optic tomography with multiply scattered light. *Journal of the Optical Society of America A*, 14(5) :1151, May 1997.
- [54] L. Wang. Mechanisms of ultrasonic modulation of multiply scattered coherent light : an analytic model. *Physical Review Letters*, 87(4) :1–4, July 2001.
- [55] S. Sakadžić and L.V. Wang. Ultrasonic modulation of multiply scattered coherent light : an analytical model for anisotropically scattering media. *Physical Review E*, 66(2) :1–9, 2002.
- [56] S. Sakadžić and L.V. Wang. Modulation of multiply scattered coherent light by ultrasonic pulses : an analytical model. *Physical Review E*, 72(3) :1–12, 2005.
- [57] S.-R. Kothapalli, S. Sakadžić, C. Kim, and L. V. Wang. Imaging optically scattering objects with ultrasound-modulated optical tomography. *Optics letters*, 32(16) :2351–3, August 2007.
- [58] J.-P. Monchalín, R. Héon, P. Bouchard, and C. Padiou. Broadband optical detection of ultrasound by optical sideband stripping with a confocal Fabry–Perot. *Applied Physics Letters*, 55(16) :1612, 1989.
- [59] S. Sakadžić and L. V. Wang. High-resolution ultrasound-modulated optical tomography in biological tissues. *Optics Letters*, 29(23) :2770, December 2004.
- [60] G. Rousseau, A. Blouin, and J.-P. Monchalín. Ultrasound-modulated optical imaging using a high-power pulsed laser and a double-pass confocal Fabry-Perot interferometer. *Optics letters*, 34(21) :3445–7, November 2009.
- [61] S.-R. Kothapalli and L. V. Wang. Ultrasound-modulated optical microscopy. *Journal of Biomedical Optics*, 13(5), 2008.
- [62] R. Macfarlane. Direct process thermal line broadening in Tm :YAG. *Journal of Luminescence*, 85(4) :181–186, January 2000.
- [63] Y. Li, P. Hemmer, C. Kim, H. Zhang, and L. V. Wang. Detection of ultrasound-modulated diffuse photons using spectral-hole burning. *Optics express*, 16(19) :14862–74, September 2008.
- [64] Y. Li, H. Zhang, C. Kim, K. H. Wagner, P. Hemmer, and L. V. Wang. Pulsed ultrasound-modulated optical tomography using spectral-hole burning as a narrowband spectral filter. *Applied physics letters*, 93(1) :11111, January 2008.
- [65] X. Xu, S.-R. Kothapalli, H. Liu, and L. V. Wang. Spectral hole burning for ultrasound-modulated optical tomography of thick tissue. *Journal of Biomedical Optics*, 15(6), 2010.

- [66] L. Wang and X. Zhao. Ultrasound-modulated optical tomography of absorbing objects buried in dense tissue-simulating turbid media. *Applied Optics*, 36(28) :7277–7282, 1997.
- [67] A. C. Boccara and S. Lévêque-Fort. Ultrasonic tagging of photon paths in scattering media : parallel speckle modulation processing. *Optics Letters*, 24(3) :181–183, 1999.
- [68] G. Yao, S. Jiao, and L. V. Wang. Frequency-swept ultrasound-modulated optical tomography in biological tissue by use of parallel detection. *Optics letters*, 25(10) :734–6, May 2000.
- [69] M. Gross, P. Goy, and M. Al-Koussa. Shot-noise detection of ultrasound-tagged photons in ultrasound-modulated optical imaging. *Optics letters*, 28(24) :2482–4, December 2003.
- [70] J. Li, G. Ku, and L. V. Wang. Ultrasound-modulated optical tomography of biological tissue by use of contrast of laser speckles. *Applied optics*, 41(28) :6030–5, October 2002.
- [71] J. W. Goodman. Some fundamental properties of speckle. *Journal of the Optical Society of America*, 66(11) :1145, November 1976.
- [72] T. W. Murray, L. Sui, G. Maguluri, R. A. Roy, A. Nieva, F. Blonigen, and C. A. DiMarzio. Detection of ultrasound-modulated photons in diffuse media using the photorefractive effect. *Optics letters*, 29(21) :2509–11, November 2004.
- [73] F. Ramaz, B. Forget, M. Atlan, A. C. Boccara, M. Gross, P. Delaye, and G. Roosen. Photorefractive detection of tagged photons in ultrasound modulated optical tomography of thick biological tissues. *Optics express*, 12(22) :5469–74, November 2004.
- [74] B. Jayet, J.-P. Huignard, and F. Ramaz. Optical phase conjugation in Nd :YVO4 for acousto-optic detection in scattering media. *Optics letters*, 38(8) :1256–8, April 2013.
- [75] P. Lai, X. Xu, and L. V. Wang. Ultrasound-modulated optical tomography at new depth. *Journal of Biomedical Optics*, 17(6) :066006, 2012.
- [76] Y. Suzuki, P. Lai, X. Xu, and L. Wang. High-sensitivity ultrasound-modulated optical tomography with a photorefractive polymer. *Optics letters*, 38(6) :899–901, March 2013.
- [77] G. Rousseau, A. Blouin, and J.-P. Monchalain. Ultrasound-modulated optical imaging using a powerful long pulse laser. *Optics express*, 16(17) :12577–90, August 2008.
- [78] C. Kim, R. J. Zemp, and L. V. Wang. Intense acoustic bursts as a signal-enhancement mechanism in ultrasound-modulated optical tomography. *Optics letters*, 31(16) :2423–5, August 2006.
- [79] J. Honeysett, E. Stride, and T. Leung. Monte Carlo simulations of acousto-optics with microbubbles. *SPIE Proceedings*, 7564, 2010.
- [80] R. Li, D. S. Elson, C. Dunsby, R. Eckersley, and M.X. Tang. Effects of acoustic radiation force and shear waves for absorption and stiffness sensing in ultrasound modulated optical tomography. *Optics express*, 19(8) :7299–311, April 2011.
- [81] K. Daoudi, A. C. Boccara, and E. Bossy. Detection and discrimination of optical absorption and shear stiffness at depth in tissue-mimicking phantoms by transient optoelastography. *Applied Physics Letters*, 94(15) :154103, 2009.
- [82] C. Kim and L. V. Wang. Multi-optical-wavelength ultrasound-modulated optical tomography : a phantom study. *Optics letters*, 32(16) :2285–2287, 2007.
- [83] A. Bratchenia, R. Molenaar, and R. P. H. Kooyman. Feasibility of quantitative determination of local optical absorbances in tissue-mimicking phantoms using acousto-optic sensing. *Applied Physics Letters*, 92(11) :113901, 2008.
- [84] T. W. Murray, P. Lai, and R. A. Roy. Measuring tissue properties and monitoring therapeutic responses using acousto-optic imaging. *Annals of biomedical engineering*, 40(2) :474–85, February 2012.



- [85] S. Gunadi and T. S. Leung. Spatial sensitivity of acousto-optic and optical near-infrared spectroscopy sensing measurements. *Journal of biomedical optics*, 16(12) :127005, December 2011.
- [86] D. J. Hall, U. Sunar, and S. Farshchi-heydari. Quadrature Detection of Ultrasound-Modulated Photons with a gain-modulated, image-intensified, CCD camera. *The Open Optics Journal*, 2 :75–78, 2008.
- [87] B. Yuan and Y. Liu. Ultrasound-modulated fluorescence from rhodamine B aqueous solution. *Journal of biomedical optics*, 15(2) :021321, 2010.
- [88] S. Gigan. Voir à travers le brouillard. *Pour la Science*, 409 :44–49, 2011.
- [89] X. Xu, H. Liu, and L.V. Wang. Time-reversed ultrasonically encoded optical focusing into scattering media. *Nature Photonics*, 5(January) :154–157, 2011.
- [90] M. Cronin-Golomb, B. Fischer, J. O. White, and A. Yariv. Theory and applications of four-wave mixing in photorefractive media. *IEEE Journal of Quantum Electronics*, 20(1) :12–30, 1984.
- [91] A. Lev and B. Sfez. In vivo demonstration of the ultrasound-modulated light technique. *Journal of the Optical Society of America A*, 20(12) :2347–2354, 2003.
- [92] A. Lev, E. Rubanov, B. Sfez, S. Shany, and A. J. Foldes. Ultrasound-modulated light tomography assessment of osteoporosis. *Optics letters*, 30(13) :1692–4, July 2005.
- [93] A. Lev and B. G. Sfez. Pulsed ultrasound-modulated light tomography. *Optics Letters*, 28(17) :1549, September 2003.
- [94] M. Lesaffre, S. Farahi, M. Gross, P. Delaye, A. C. Boccara, and F. Ramaz. Acousto-optical coherence tomography using random phase jumps on ultrasound and light. *Optics express*, 17(20) :18211–8, September 2009.
- [95] D. Gabor. Microscopy by reconstructed wave-fronts. *Proceedings of the Royal Society A : Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 197(1051) :454–487, July 1949.
- [96] N. Leith and J. Upatnieks. Reconstructed Wavefronts and Communication Theory. *Journal of the Optical Society of America*, 52(10) :1123–1130, 1962.
- [97] E. N. Leith and J. Upatnieks. Wavefront reconstruction with diffused illumination and three-dimensional objects. *Journal of the Optical Society of America*, 54(11) :1295, 1964.
- [98] M. A. Kronrod, N. S. Merzlyakov, and L. P. Yaroslavski. Reconstruction of holograms with a computer. *Soviet Physics. Technical Physics*, 17 :333–334, 1972.
- [99] L. Onural and P. D. Scott. Digital decoding of in-line holograms. *Optical Engineering*, 26 :1124–1132, 1987.
- [100] U. Schnars and W. Jüptner. Direct recording of holograms by a CCD target and numerical reconstruction. *Applied optics*, 33(2) :179–81, January 1994.
- [101] I. Yamaguchi and T. Zhang. Phase-shifting digital holography. *Optics letters*, 22(16) :1268–70, August 1997.
- [102] M. Atlan, M. Gross, and E. Absil. Accurate phase-shifting digital interferometry. *Optics letters*, 32(11) :1456–8, June 2007.
- [103] E. CuChe, P. Marquet, and C. Depeursinge. Spatial filtering for zero-order and twin-image elimination in digital off-axis holography. *Applied optics*, 39(23) :4070–5, August 2000.
- [104] U. Schnars and W. Jüptner. Digital recording and numerical reconstruction of holograms. *Applied optics*, 38(22) :4812–20, August 1999.
- [105] J. Selb, L. Pottier, and A. C. Boccara. Nonlinear effects in acousto-optic imaging. *Optics letters*, 27(11) :918–20, June 2002.



- [106] B. C. Forget, F. Ramaz, M. Atlan, J. Selb, and A. C. Boccara. High-contrast fast Fourier transform acousto-optical tomography of phantom tissues with a frequency-chirp modulation of the ultrasound. *Applied optics*, 42(7) :1379–83, March 2003.
- [107] M. Atlan. *Imagerie optique cohérente de milieux diffusants*. PhD thesis, Université Paris VI, 2005.
- [108] M. Atlan, B. C. Forget, F. Ramaz, A. C. Boccara, and M. Gross. Pulsed acousto-optic imaging in dynamic scattering media with heterodyne parallel speckle detection. *Optics letters*, 30(11) :1360–2, June 2005.
- [109] E. Benoit a la Guillaume, S. Farahi, E. Bossy, M. Gross, and F. Ramaz. Acousto-optical coherence tomography with a digital holographic detection scheme. *Optics letters*, 37(15) :3216–8, August 2012.
- [110] M. Lesaffre, S. Farahi, A. C. Boccara, F. Ramaz, and M. Gross. Theoretical study of acousto-optical coherence tomography using random phase jumps on ultrasound and light. *Journal of the Optical Society of America. A, Optics, image science, and vision*, 28(7) :1436–44, July 2011.
- [111] T. J. Hall, M. Bilgen, M. F. Insana, and T. A. Krouskop. Phantom materials for elastography. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control*, 44(6) :1355–1365, 1997.
- [112] H. J. van Staveren, C. J. M. Moes, J. van Marie, S. A. Prahl, and M. J. C. van Gemert. Light scattering in Intralipid-10400–1100 nm. *Applied Optics*, 30(31) :4507–4514, November 1991.
- [113] F. Verpillat, F. Joud, M. Atlan, and M. Gross. Digital holography at shot noise level. *Journal of Display Technology*, 6(10) :455–464, October 2010.
- [114] E. Benoit a la Guillaume, S. Farahi, and F. Ramaz. Détection holographique par réduction de cohérence acousto-optique. In S. Mottin, F. Ramaz, and G. Lelièvre, editors, *Biophotonique Générale, Optique & Imageries pour le Diagnostic dans les Sciences du vivant et en Médecine*, pages 495–507. Publications Mission Ressources et Compétences Technologiques, Meudon, 2012.
- [115] T. Shimobaba, Y. Sato, J. Miura, M. Takenouchi, and T. Ito. Real-time digital holographic microscopy using the graphic processing unit. *Optics express*, 16(16) :11776–11781, 2008.
- [116] T. Laforest, A. Dupret, A. Verdant, F. Ramaz, S. Gigan, G. Tessier, and E. Benoit a la Guillaume. A 4000 Hz CMOS image sensor with in-pixel processing for light measurement and modulation. *Proc 11th IEEE International NEWCAS Conference*, pages 2–5, 2013.
- [117] A. Ashkin, G. D. Boyd, J. M. Dziedzic, R. G. Smith, and A. A. Ballman. Optically-induced refractive index inhomogeneities in LiNbO<sub>3</sub> and LiTaO<sub>3</sub>. *Applied Physics Letters*, 9(1) :72–74, 1966.
- [118] F. S. Chen. Holographic Storage in Lithium Niobate. *Applied Physics Letters*, 13(7) :223, 1968.
- [119] P. Yeh. *Introduction to photorefractive nonlinear optics*. Wiley, New York, 1993.
- [120] P. Günter and J.-P. Huignard. *Photorefractive materials and their applications*. Springer, New York, 2006.
- [121] N. V. Kukhtarev, V. B. Markov, S. G. Odulov, M. S. Soskin, and V. L. Vinetskii. Holographic storage in electrooptic crystals. I. Steady state. *Ferroelectrics*, 22 :949–960, 1979.
- [122] A. M. Glass. The photorefractive effect. *Optical Engineering*, 17(5) :175470–175479, October 1978.

- [123] P. Pellat-Finet. Measurement of the electro-optic coefficient of BSO crystals. *Optics Communications*, 50(5) :275–280, 1984.
- [124] D. Haertle, G. Caimi, A. Haldi, G. Montemezzani, P. Günter, A. A. Grabar, I. M. Stoika, and Y. M. Vysochanskii. Electro-optical properties of Sn<sub>2</sub>P<sub>2</sub>S<sub>6</sub>. *Optics Communications*, 215(4-6) :333–343, January 2003.
- [125] J.-M. Jonathan and R. Levy. *Optique non linéaire et ses matériaux*. EDP Sciences, Les Ulis, 2000.
- [126] R. Brouard. *Cristaux photoréfractifs à long effet mémoire pour l'interférométrie holographique aux longueurs d'onde des diodes laser*. PhD thesis, Université Paris XI, 1998.
- [127] S. Farahi, G. Montemezzani, A. A. Grabar, J.-P. Huignard, and F. Ramaz. Photorefractive acousto-optic imaging in thick scattering media at 790 nm with a Sn(2)P(2)S(6) :Te crystal. *Optics letters*, 35(11) :1798–800, June 2010.
- [128] H. Kogelnik. Coupled wave theory for thick hologram gratings. *The Bell System Technical Journal*, 48(9) :2909–2947, November 1969.
- [129] P. Delaye, L. A. de Montmorillon, and G. Roosen. Transmission of time modulated optical signals through an absorbing photorefractive crystal. *Optics Communications*, 118(1-2)(July) :154–164, 1995.
- [130] S. G. Odoulov, A. N. Shumelyuk, U. Hellwig, R. A. Rupp, A. A. Grabar, and I. M. Stoyka. Photorefractive in tin hypthiodiphosphate in the near infrared. *Journal of the Optical Society of America B*, 13(10) :2352, October 1996.
- [131] S. G. Odoulov, A. N. Shumelyuk, U. Hellwig, R. A. Rupp, and A. A. Grabar. Photorefractive beam coupling in tin hypthiodiphosphate in the near infrared. *Optics letters*, 21(10) :752–4, May 1996.
- [132] T. Bach, M. Jazbinšek, G. Montemezzani, P. Günter, A. A. Grabar, and Y. M. Vysochanskii. Tailoring of infrared photorefractive properties of Sn<sub>2</sub>P<sub>2</sub>S<sub>6</sub> crystals by Te and Sb doping. *Journal of the Optical Society of America B*, 24(7) :1535–1541, 2007.
- [133] S. Farahi, E. Benoit, A. A. Grabar, J.-P. Huignard, and F. Ramaz. Time resolved three-dimensional acousto-optic imaging of thick scattering media. *Optics letters*, 37(13) :2754–6, July 2012.
- [134] M. Lesaffre, F. Jean, F. Ramaz, A. C. Boccara, M. Gross, P. Delaye, and G. Roosen. In situ monitoring of the photorefractive response time in a self-adaptive wavefront holography setup developed for acousto-optic imaging. *Optics express*, 15(3) :1030–42, February 2007.
- [135] M. Gross, M. Lesaffre, F. Ramaz, P. Delaye, G. Roosen, and A. C. Boccara. Detection of the tagged or untagged photons in acousto-optic imaging of thick highly scattering media by photorefractive adaptive holography. *The European physical journal. E, Soft matter*, 182 :173–182, December 2008.
- [136] I. de Oliveira and J. Frejlich. Gain and stability in photorefractive two-wave mixing. *Physical Review A*, 64(3) :033806, August 2001.
- [137] J. Feinberg. Asymmetric self-defocusing of an optical beam from the photorefractive effect. *Journal of the Optical Society of America*, 72(1) :46, January 1982.
- [138] M. Cronin-Golomb and A. Yariv. Optical limiters using photorefractive nonlinearities. *Journal of Applied Physics*, 57(11) :4906, 1985.
- [139] S. Farahi. *Méthodes holographiques et spectroscopiques appliquées à l'imagerie acousto-optique de milieux diffusants épais*. PhD thesis, Université Paris VI, 2011.
- [140] N. A. Korneev and S. I. Stepanov. Dynamic self-diffraction of laterally vibrating speckle patterns in photorefractive crystals. *Optik*, 91(2) :61–65, 1992.

- [141] A. A. Kamshilin, T. Jaaskelainen, and Y. N. Kulchin. Adaptive correlation filter for stabilization of interference-fiber-optic sensors. *Applied Physics Letters*, 73(6) :705, 1998.
- [142] H. Rajbenbach, S. Bann, P. Réfrégier, P. Joffre, J.-P. Huignard, H. S. Buchkremer, A. S. Jensen, E. Rasmussen, K. H. Brenner, and G. Lohman. Compact photorefractive correlator for robotic applications. *Applied optics*, 31(26) :5666–74, September 1992.
- [143] A. A. Kamshilin, E. Raita, K. Paivasaari, T. Jaaskelainen, and Y. N. Kulchin. Photorefractive correlation filtering of time-varying laser speckles for vibration monitoring. *Applied Physics Letters*, 73(11) :1466, 1998.
- [144] E. Benoit a la Guillaume, U. Bortolozzo, J.-P. Huignard, S. Residori, and F. Ramaz. Dynamic ultrasound modulated optical tomography by self-referenced photorefractive holography. *Optics letters*, 38(3) :287–9, February 2013.
- [145] O. Daniel, A. Stelmach, J.-M. C. Jonathan, and G. Roosen. Whole-beam method analysis of photorefractive effect in correlators. *Optics Communications*, 113(4-6) :559–567, January 1995.
- [146] J. Laufer, D. Delpy, C. Elwell, and P. Beard. Quantitative spatially resolved measurement of tissue chromophore concentrations using photoacoustic spectroscopy : application to the measurement of blood oxygenation and haemoglobin concentration. *Physics in medicine and biology*, 52(1) :141–68, January 2007.
- [147] E. Bossy, L. Sui, T. W. Murray, and R. A. Roy. Fusion of conventional ultrasound imaging and acousto-optic sensing by use of a standard pulsed-ultrasound scanner. *Optics letters*, 30(7) :744–6, April 2005.
- [148] G. Montaldo, M. Tanter, J. Bercoff, N. Benech, and M. Fink. Coherent plane-wave compounding for very high frame rate ultrasonography and transient elastography. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control*, 56(3), 2009.
- [149] M. Tanter, J. Bercoff, A. Athanasiou, T. Deffieux, J.-L. Gennisson, G. Montaldo, M. Muller, A. Tardivon, and M. Fink. Quantitative assessment of breast lesion viscoelasticity : initial clinical results using Supersonic Shear Imaging. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 34(9) :1373–1386, 2008.
- [150] M. Muller, J.-L. Gennisson, T. Deffieux, M. Tanter, and M. Fink. Quantitative viscoelasticity mapping of human liver using supersonic shear imaging : preliminary in vivo feasibility study. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 35(2) :219–229, 2009.
- [151] L. Sandrin, M. Tanter, S. Catheline, and M. Fink. Shear modulus imaging with 2-D transient elastography. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control*, 49(4) :426–435, 2002.
- [152] A. P. Sarvazyan, O. V. Rudenko, S. D. Swanson, J. B. Fowlkes, and Emelianov S. Y. Shear wave elasticity imaging : a new ultrasonic technology of medical diagnostics. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 24(9) :1419–1435, 1998.
- [153] J. Bercoff, M. Tanter, and M. Fink. Supersonic shear imaging : a new technique for soft tissue elasticity mapping. *Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control*, 51(4) :396–409, 2004.
- [154] W. A. Berg, D. O. Cosgrove, C. J. Doré, F. K. W. Schäfer, W. E. Svensson, R. J. Hooley, R. Ohlinger, E. B. Mendelson, C. Balu-maestro, M. Locatelli, C. Tourasse, B. C. Cavanagh, A. Tardivon, J. Gay, J.-P. Henry, and C. Cohen-Bacrie. Shear-wave Elastography Improves the Specificity of Breast US : Study of 939 Masses. *Radiology*, 262(2) :435–449, 2012.

- [155] E. Macé, G. Montaldo, I. Cohen, M. Baulac, M. Fink, and M. Tanter. Functional ultrasound imaging of the brain. *Nature Methods*, 8(Brief Communication) :662–664, 2011.
- [156] B. J. Tromberg, N. Shah, R. Lanning, A. Cerussi, J. Espinoza, T. Pham, L. Svaasand, and J. Butler. Non-invasive in vivo characterization of breast tumors using photon migration spectroscopy. *Neoplasia (New York, N.Y.)*, 2(1-2) :26–40, 2000.
- [157] B. W. Pogue, S. P. Poplack, T. O. McBride, W. A. Wells, K. S. Osterman, U. L. Osterberg, and K. D. Paulsen. Quantitative Hemoglobin Tomography with Diffuse Near-Infrared Spectroscopy : Pilot Results in the Breast. *Radiology*, 218(5) :261–266, 2001.
- [158] J. Seguin, B.-T. Doan, H. Latorre Ossa, L. Jugé, J.-L. Gennisson, M. Tanter, D. Scherman, G. G. Chabot, and N. Mignet. Evaluation of Nonradiative Clinical Imaging Techniques for the Longitudinal Assessment of Tumour Growth in Murine CT26 Colon Carcinoma. *International Journal of Molecular Imaging*, 2013 :1–13, 2013.
- [159] S. Eskelin, S. Pyrhönen, P. Summanen, J. U. Prause, and T. Kivelä. Screening for metastatic malignant melanoma of the uvea revisited. *Cancer*, 85(5) :1151–9, March 1999.
- [160] D. S. Gombos, K. R. Van Quiill, M. Uusitalo, and J. M. O’Brien. Geographic disparities in diagnostic screening for metastatic uveal melanoma. *Ophthalmology*, 111(12) :2252–2258, 2004.
- [161] A. Lev, Z. Kotler, and B. G. Sfez. Ultrasound tagged light imaging in turbid media in a reflectance geometry. *Optics letters*, 25(6) :378–80, March 2000.
- [162] G. Ter Haar. Ultrasound focal beam surgery. *Ultrasound in medicine & biology*, 21(9) :1089–1100, 1995.
- [163] S. A. Sapareto and W. C. Dewey. Thermal dose determination in cancer therapy. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 10(6) :787–800, 1984.
- [164] J. G. Lynn, R. L. Zwemer, A. J. Chick, and A. E. Miller. A new method for the generation and use of focused ultrasound in experimental biology. *The Journal of General Physiology*, 26(20) :179–193, 1942.
- [165] H. T. Ballantine, E. Bell, and J. Manlapaz. Progress and problems in the neurological applications of focused ultrasound. *Journal of neurosurgery*, 17(5) :858–76, September 1960.
- [166] S. Vaezy, R. Martin, P. Yazii, P. Kaczowski, G. Keilman, S. Carter, M. Caps, E. Y. Chi, M. Bailey, and L. Crum. Hemostasis of punctured blood vessels using high-intensity focused ultrasound. *Ultrasound in Medicine and Biology*, 224(6) :903–910, 1998.
- [167] U. Rosenschein, V. Furman, E. Kerner, I. Fabian, J. Bernheim, and Y. Eshel. Ultrasound imaging-guided noninvasive ultrasound thrombolysis : preclinical results. *Circulation*, 102(2) :238–245, July 2000.
- [168] K. Ng and Y. Liu. Therapeutic ultrasound : Its application in drug delivery. *Medicinal Research Reviews*, 22(2) :204–223, March 2002.
- [169] J. E. Kennedy, F. Wu, G. R. ter Haar, F. V. Gleeson, R. R. Phillips, M. R. Middleton, and D. Cranston. High-intensity focused ultrasound for the treatment of liver tumours. *Ultrasonics*, 42(1-9) :931–5, April 2004.
- [170] X. Rebillard, A. Gelet, J.-L. Davin, M. Soulie, D. Prapotnich, X. Cathelineau, F. Rozet, and G. Vallancien. Transrectal high-intensity focused ultrasound for treatment of localized prostate cancer. *Journal of Endourology*, 19(6) :693–701, May 2005.
- [171] F. Wu, Z.-B. Wang, Y.-D. Cao, W.-Z. Chen, J. Bai, J.-Z. Zou, and H. Zhu. A randomised clinical trial of high-intensity focused ultrasound ablation for the treatment of patients with localised breast cancer. *British journal of cancer*, 89(12) :2227–33, December 2003.

- [172] H. E. Cline, J. F. Schenck, R. D. Watkins, K. Hynynen, and F. A. Jolesz. Magnetic resonance-guided thermal surgery. *Magnetic resonance in medicine*, 30(1) :98–106, July 1993.
- [173] R. Illing and A. Chapman. The clinical applications of high intensity focused ultrasound in the prostate. *International Journal of Hyperthermia*, 23(2) :183–191, 2007.
- [174] M. R. Bailey, L. N. Couret, O. A. Sapozhnikov, V. A. Khokhlova, G. Ter Haar, S. Vaezy, X. Shi, R. Martin, and L. A. Crum. Use of overpressure to assess the role of bubbles in focused ultrasound lesion shape in vitro. *Ultrasound in medicine & biology*, 27(5) :695–708, 2001.
- [175] B. Arnal, M. Pernot, and M. Tanter. Monitoring of thermal therapy based on shear modulus changes : I. shear wave thermometry. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control*, 58(2) :369–378, 2011.
- [176] B. Arnal, M. Pernot, and M. Tanter. Monitoring of thermal therapy based on shear modulus changes : II. shear wave imaging of thermal lesions. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control*, 58(8) :1603–1611, 2011.
- [177] A. M. K. Nilsson, C. Stureson, D. L. Liu, and S. Andersson-Engels. Changes in spectral shape of tissue optical properties in conjunction with laser-induced thermotherapy. *Applied optics*, 37(7) :1256–67, March 1998.
- [178] P. Lai, J. R. McLaughlan, A. B. Draudt, T.W. Murray, R. O. Cleveland, and R. A. Roy. Real-time monitoring of high-intensity focused ultrasound lesion formation using acousto-optic sensing. *Ultrasound in medicine & biology*, 37(2) :239–52, February 2011.
- [179] G. Ter Haar and C. Coussios. High intensity focused ultrasound : Physical principles and devices. *International Journal of Hyperthermia*, 23(2) :183–191, 2007.
- [180] M. Gross, F. Ramaz, B. C. Forget, M. Atlan, A. C. Boccara, P. Delaye, and G. Roosen. Theoretical description of the photorefractive detection of the ultrasound modulated photons in scattering media. *Optics Express*, 13(18) :7097–7112, 2005.
- [181] A. Ishimaru. *Wave propagation and scattering in random media*. IEEE Press, New York, 1997.





## Publications

S. Farahi, **E. Benoit**, A. A. Grabar, J.-P. Huignard, et F. Ramaz, "Time resolved three-dimensional acousto-optic imaging of thick scattering media", *Optics Letters* 37(13), p. 2754-2756, juillet 2012.

**E. Benoit a la Guillaume**, S. Farahi, E. Bossy, M. Gross, et F. Ramaz, "Acousto-optical coherence tomography with a digital holographic detection scheme", *Optics Letters* 37(15), p. 3216-3218, août 2012.

**E. Benoit a la Guillaume**, S. Farahi, et F. Ramaz, "Détection holographique de contrastes optiques millimétriques dans les milieux diffusants épais par réduction de cohérence acousto-optique", dans *Biophotonique Générale, Optique et Imageries pour le Diagnostic dans les Sciences du Vivant et en Médecine*, ISBN 978-2-918701-11-8, Ed. Publications Mission Ressources et Compétences Technologiques, p. 495-507, décembre 2012.

**E. Benoit a la Guillaume**, U. Bortolozzo, J.-P. Huignard, S. Residori, et F. Ramaz, "Dynamic ultrasound modulated optical tomography by self-referenced photorefractive holography", *Optics Letters* 38(3), p. 287-289, février 2013.

T. Laforest, A. Dupret, A. Verdant, F. Ramaz, S. Gigan, G. Tessier, et **E. Benoit a la Guillaume**, "A 4000 Hz CMOS image sensor with in-pixel processing for light measurement and modulation", *Proc. 11th IEEE International NewCas Conference*, p. 2-5, juin 2013.



## Présentations orales

**E. Benoit\***, S. Farahi, E. Bossy, et F. Ramaz, "Acousto-optic imaging using a powerful long pulse laser and digital holography", *SPIE/OSA European Conferences on Biomedical Optics*, Munich (Allemagne), mai 2011.

**E. Benoit**, S. Farahi, E. Bossy\*, et F. Ramaz, "Acousto-optic imaging using a powerful long pulse laser and digital holography", *161<sup>st</sup> meeting : Acoustical Society of America*, Seattle (États-Unis), mai 2011.

**E. Benoit\***, S. Farahi, et F. Ramaz, "Détection holographique de contrastes optiques millimétriques dans les milieux diffusants épais par réduction de cohérence acousto-optique", *OPTDIAG 2012*, Paris (France), mai 2012.

**E. Benoit\***, J.-L. Gennisson, S. Farahi, A. A. Grabar, M. Tanter, et F. Ramaz, "Ultrasound modulated optical tomography of small animals", *International OSA Network of Students 12*, Naples (Italie), juillet 2012.

**E. Benoit\***, S. Farahi, J.-L. Gennisson, A. A. Grabar, J.-P. Huignard, M. Tanter, et F. Ramaz, "Real-time acousto-optic and ultrasound measurement for bimodal imaging of small animals", *SPIE/OSA European Conferences on Biomedical Optics*, Munich (Allemagne), mai 2013.

**E. Benoit\***, A. Prost, E. Bossy, et F. Ramaz, "Acousto-optic localized monitoring of ultrasound therapy in the therapeutic window", *3<sup>rd</sup> International Symposium on Laser Ultrasonics and Advanced Sensing*, Yokohama (Japon), juin 2013.

\* indique l'orateur.